



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DA OSMOLARIDADE DA LÁGRIMA EM CÃES ATÓPICOS COM CONJUNTIVITE  
ALÉRGICA

MARIA DO GUADALUPE MÈGRE PIRES DE CARVALHO LOURENÇO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José António Mestre Prates  
Doutor José Henrique Duarte Correia  
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier  
Felix Lourenço  
Doutora Esmeralda Sofia Costa Delgado

ORIENTADOR

Doutora Ana Mafalda Gonçalves  
Xavier Felix Lourenço  
CO-ORIENTADOR  
Doutora Esmeralda Sofia Costa  
Delgado

2013

LISBOA

---







UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DA OSMOLARIDADE DA LÁGRIMA EM CÃES ATÓPICOS COM CONJUNTIVITE  
ALÉRGICA

MARIA DO GUADALUPE MÈGRE PIRES DE CARVALHO LOURENÇO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José António Mestre Prates  
Doutor José Henrique Duarte Correia  
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier  
Felix Lourenço  
Doutora Esmeralda Sofia Costa Delgado

ORIENTADOR

Doutora Ana Mafalda Gonçalves  
Xavier Felix Lourenço

CO-ORIENTADOR

Doutora Esmeralda Sofia Costa  
Delgado

2013

LISBOA

---

Dedicado à minha Mãe.

## **Agradecimentos**

Quero agradecer à minha orientadora Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço por toda a dedicação e esforço que fez para me acompanhar neste projeto, foi incansável com todo este processo e tornou-se numa amiga. Tudo o que sei, na “nossa” dermatologia devo-o a si e por isso sempre lhe terei a maior gratidão.

À Professora Doutora Esmeralda Delgado por estar sempre disponível, por todo o trabalho que teve comigo neste longo projeto e por todos os ensinamentos que me transmitiu.

Ao CIISA, à FMV-UTL e a Produlab por financiarem este estudo e permitirem que ele se realizasse.

Ao Professor Doutor José Henrique Duarte Correia por sempre ter estado presente e por ser o meu “Pai” da veterinária, nunca poderei retribuir tudo o que fez por mim.

À Dr<sup>a</sup> Emília que durante seis meses me transmitiu ensinamentos essenciais para o meu futuro e pela sua constante disponibilidade e amizade.

À Professora Doutora Anabela Moreira, à Professora Doutora Ilda Gomes Rosa, à Professora Doutora Berta São Braz por todo o carinho e por saber que tenho sempre a porta do gabinete aberta.

A toda a equipe do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, os médicos (Ricardo Marques, Gonçalo Vicente, Nuno Felix, Rute Teixeira, Leonor Iglésias, Joana Pontes, Joana Almeida, Joana Gomes, Carla Monteiro, Ana Murta, Mariana Pereira, Ricardo Ferreira, António Almeida, Óscar Gamboa, e Rodrigo Bom) enfermeiros (Rita Orêncio, Patrícia Capelas, Sandra Félix, Diogo Perdigão e Irina Knorr) e auxiliares (Luís Silva, Pedro Lourenço, Carla Silva, Carla Pardal e Sofia Caldeira). Um especial agradecimento à Maria Alexandra Basso, a minha Pim Pim, sem ela o meu conceito de amizade desvanece, a ela o meu enorme agradecimento por tudo o que me ensinou e por tornar esta amizade tão especial, como só ela sabe, ao Ricardo Marques, Nuno Felix, Ana Murta e Joana Pontes. Um grande obrigado às enfermeiras Sandra Felix e Irina Knorr que sempre me colocaram um sorriso na cara e aos auxiliares Pedro Lourenço, Sofia Caldeira e Carla Silva. Um agradecimento do tamanho do mundo a todo o pessoal da recepção (Anita Bernardino, Tânia Sobral, Rita Costa e Lúcia Nobre) e da farmácia por todo o carinho e amizade que sempre senti e por me ajudarem nas coisas mais impossíveis.

Obrigada ao Dr. Mauro Bragança pela paciência e disponibilidade que teve em me ajudar nesta tese, principalmente com a estatística.

À minha Mãe, a melhor do mundo, aquela que sempre me apoiou e que sempre esteve presente nas melhores e piores alturas, que foi mais que somente uma mãe todos os dias da

minha vida. Aos meus irmãos, Gonçalo e Caetana, de quem eu tenho o maior orgulho e que adoro muito. Ao meu Pai, um enorme beijinho.

Aos meus Avós, Názinha e Zézinho, por serem um exemplo de vida. Ao resto da minha maravilhosa família, porque para além de sermos uma verdadeira família somos um Clã!

À minha Prima Ana que está sempre disponível, 24 horas por dia, para ouvir as minhas crises.

Aos meus animais, que no decorrer desta tese foram testados para tudo.

Aos meus maravilhosos amigos, Dulce, Andreia, Didi, Marta, Isabel, Hugo, Mariana, Nathan, Paulinha, Filipa e Ana que sempre me fez sentir a melhor e me apoiaram em tudo.

A uma pessoa especial, o meu querido namorado, que tem estado presente na escrita desta tese, que todos os dias me pergunta por ela e todos os dias se disponibiliza para ajudar, sem ele parte desta tese não existiria, a ti Paulo, um beijo infinito.

# AVALIAÇÃO DA OSMOLARIDADE DA LÁGRIMA EM CÃES ATÓPICOS COM CONJUNTIVITE ALÉRGICA

## Resumo

A osmolaridade do filme lacrimal é um parâmetro útil para avaliar a qualidade da lágrima. Esta representa a concentração de catiões (sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro e cobre) e de aniões (cloretos, carbonatos e fosfatos) dissolvidos na porção aquosa da lágrima. O objectivo deste estudo é avaliar a osmolaridade do filme lacrimal em cães atópicos com conjuntivite alérgica (CA). A CA é muito prevalente nos cães que têm dermatite atópica (DA). No entanto esta afeção é um diagnóstico de exclusão, pois não existe um teste simples e eficaz para a diagnosticar. Foi incluído no estudo um grupo controlo (n=20) e um grupo de cães atópicos com sinais de CA (n=20). Todos os animais foram sujeitos a exame dermatológico, bem como a exame oftálmico para avaliação dos sinais clínicos de CA (quemose, prurido, epífora, hiperémia conjuntival, corrimento ocular e presença de doença da córnea) e sua classificação numa escala de 0-3. Adicionalmente o grupo dos atópicos foi classificado segundo a escala CADESI-03. Avaliou-se a osmolaridade do filme lacrimal com o sistema TearLab osmolarity® (TearLab Corp., San Diego, E.U.A.).

O estudo estatístico foi realizado com GraphPad Instat® recorrendo aos testes de Mann-Whitney e regressão linear.

Após avaliação dos dados, a osmolaridade do filme lacrimal apresentou um valor médio de  $320,8 \pm 9,6$  mOsm/L no grupo controlo e  $340,3 \pm 21,6$  mOsm/L no grupo de animais atópicos. Os valores de osmolaridade dos dois grupos apresentaram diferenças estatísticas extremamente significativas ( $P < 0,1\%$ ; teste Mann-Whitney). Não se encontraram diferenças significativas entre a osmolaridade da lágrima do olho direito e do olho esquerdo no grupo controlo ( $P = 0,5244$ ; teste Mann-Whitney) nem no grupo atópico ( $P = 0,123$ ; teste Mann-Whitney). Nos pacientes atópicos o valor de CADESI-03 médio foi de  $180,1 \pm 66,50$  valores e o score de CA foi  $8,2 \pm 2,36$  valores. A osmolaridade dos cães atópicos e os seus CADESI-03 exibiram uma correlação estatística extremamente significativa ( $P < 0,1\%$ ; teste de regressão linear). Pelo contrário, não se encontrou uma correlação estatística significativa entre a osmolaridade dos cães atópicos e o score de CA ( $P = 0,8385$ ; teste de regressão linear).

Podemos concluir que a osmolaridade da lágrima se encontra alterada nos cães atópicos afetados por CA. Esta informação é útil tanto para diagnóstico de CA como para avaliação da resposta à terapêutica. Poderá também ter interesse quando consideramos o cão como potencial modelo de CA no Homem.

Palavras-chave: Conjuntivite alérgica, Osmolaridade, Tearlab osmolarity ®.

# TEAR FILM OSMOLARITY EVALUATION IN ATOPIC DOGS WITH ALLERGIC CONJUNCTIVITIS

## Abstract

Tear film osmolality is a crucial parameter to evaluate tear's quality. It represents cation (sodium, potassium, calcium, magnesium, iron and copper) and anion (chlorides, carbonates, and phosphates) concentration in the tear's aqueous portion. The goal of this study is to evaluate the osmolality of the tear film in atopic dogs with allergic conjunctivitis. The majority of dogs, which suffer from atopic dermatitis, also exhibit symptoms of allergic conjunctivitis. Nevertheless, it is an exclusion diagnosis. No simple and effective diagnostic test is available in replacement.

In this study both control group (n=20) and a group of atopic dogs with symptoms of allergic conjunctivitis (n=20) were evaluated. All animals were subject to a dermatological, as well as an ophthalmological examination, with the objective of evaluating clinical signs of allergic conjunctivitis, (chemosis, pruritus, swelling, conjunctival hyperemia, ocular discharge, and the presence of corneal disease) and rate then on a scale of 0-3. Additionally, the atopic group was assessed according to the CADESI-03 scale. The tear film osmolality was evaluated using the TearLab Osmolarity System®. The statistical study was conducted using GrahPad Instat®, as well as the Mann-Whitney and linear regression tests.

After the data evaluation, we found that the tear film osmolality showed a mean value of  $320,8 \pm 9,6$  mOsm/L in the control group, and a mean value of  $340,3 \pm 21,6$  mOsm/L in the atopic group. The osmolality values of both groups showed a statistically significant difference ( $P < 0,1\%$ ; Mann-Whitney test). However, the study did not find a statistically significant difference between the osmolality of the right and left eye in the control group ( $P = 0,5244$ ; Mann-Whitney test) or the atopic group ( $P = 0,123$ ; Mann-Whitney test). In the atopic subjects, the mean CADESI-03 value was  $180,1 \pm 66,50$ , and the allergic conjunctivitis score was  $8,2 \pm 2,36$ . The tear film osmolality of atopic dogs and their CADESI-03 values, exhibit a statistically significant correlation ( $P < 0,1\%$ ; linear regression test). On the other hand, the study did not find a statistically significant correlation between the osmolality of the atopic dogs and the score of allergic conjunctivitis ( $P = 0,8385$ ; linear regression test).

We can then conclude that the tear film osmolality is altered in atopic dogs suffering from allergic conjunctivitis. This information can be used in the diagnostic of allergic conjunctivitis as well as in the evaluation of treatment effectiveness. Dogs can also be considered as potential model for humans with similar conditions.

Key words: Allergic Conjunctivitis, Osmolarity, Tearlab osmolality ®

## **Comunicações científicas**

Os resultados preliminares do presente estudo foram apresentados no XXI congresso da APMVEAC, sob a forma de comunicação oral, realizado no Centro de Congressos de Lisboa nos dias 11 e 12 de Maio de 2013.

G. Mègre, E. Delgado e A. Lourenço, “Avaliação da osmolaridade da lágrima em cães atópicos com conjuntivite alérgica”.

Este trabalho ganhou ainda o prémio de “Melhor comunicação” no XXI congresso da APMVEAC, realizado no Centro de Congressos de Lisboa nos dias 11 e 12 de Maio de 2013.

## Índice Geral

I – INTRODUÇÃO .....	1
II – ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO .....	2
III – AVALIAÇÃO DA OSMOLARIDADE DA LÁGRIMA DE CÃES ATÓPICOS COM CONJUNTIVITE ALÉRGICA .....	4
1 – Revisão Bibliográfica .....	4
1.1 – Dermatite Atópica .....	4
1.1.1 – Patogenia.....	5
1.1.2 - Incidência e fatores predisponentes.....	6
1.1.3 – Sinais Clínicos relevantes e distribuição lesional.....	8
1.2 - Conjuntivite alérgica .....	11
1.2.1 – Introdução.....	11
1.2.2 – Anatomia do olho.....	13
1.2.2.1 – Filme lacrimal e conjuntiva.....	13
1.2.2.2 – Córnea .....	14
1.2.3 – Fisiopatologia.....	15
1.2.4 – Incidência.....	19
1.2.5 - Conjuntivite alérgica no Homem.....	20
1.2.6 - Sinais Clínicos .....	22
1.2.7 - Diagnóstico .....	25
1.2.8 - Tratamento .....	27
1.3 - Osmolaridade do Filme Lacrimal .....	28
1.3.1 – Introdução.....	28
1.3.2 – Hiperosmolaridade lacrimal .....	30
1.3.3 – A osmolaridade lacrimal na conjuntivite alérgica.....	31
1.3.3.1 – “Olho seco” e conjuntivite alérgica.....	31
1.4 - Objetivos .....	34
2 - Materiais e Métodos.....	35
2.1 - Amostra em estudo .....	35
2.2 - Critérios de inclusão e exclusão dos animais.....	35
2.3 - Avaliação Dermatológica .....	36
2.4 - Avaliação Oftalmológica .....	37
2.5 – Análise estatística .....	40
3 – Resultados.....	42
3.1 – Osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo e no grupo de animais atópicos .....	42
3.2 – Osmolaridade da lágrima do olho direito e do olho esquerdo no grupo controlo e no grupo experiência (atópicos).....	43
3.3 – Valor de CADESI-03 dos pacientes atópicos e o score de conjuntivite alérgica....	44
3.4 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu CADESI-03 .....	44
3.5 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu score de conjuntivite alérgica .....	45
4 – Discussão .....	47
4.1 – Osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo e no grupo de animais atópicos .....	47
4.2 – Osmolaridade da lágrima do olho direito e do olho esquerdo no grupo controlo e no grupo experiência (atópicos).....	49
4.3 – Valor de CADESI-03 dos pacientes atópicos e o score de conjuntivite alérgica....	49
4.4 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu CADESI-03 .....	49



4.5 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu score de conjuntivite alérgica .....	50
5 – Conclusão, Limitações do Estudo e Perspectivas Futuras.....	51
6 – Bibliografia .....	53
7 - Anexos.....	58
Anexo I – Critérios de Diagnóstico de Dermatite Atópica Canina.....	59
Anexo II – Autorização dos donos para o animal participar no estudo “Avaliação da osmolaridade lacrimal em cães atópicos com conjuntivite alérgica”.....	60
Anexo III – CADESI-03. ....	61
Anexo IV – Ficha oftálmica.....	63
Anexo V – Dados dos animais do estudo realizado.....	65

## Índice de Figuras

Figura nº1 - Distribuição esquemática das lesões de dermatite atópica canina.....	8
Figura nº2 - Zona abominal que apresenta ligeiro eritema, com lesões de liquenificação e hiperpigmentação num cão com diagnóstico de dermatite atópica canina. ....	9
Figura nº3 - Lesões eritematosas na zona da vulva (onde já existe liquenificação) e face ventral da cauda induzidos por lambedura num cão com dermatite atópica canina. ....	9
Figura nº4 - Granuloma por lambedura na pata de um Bulldog Inglês com dermatite atópica canina. ....	10
Figura nº5 - Lesões interdigitais eritematosas por lambedura num cão com dermatite atópica canina. ....	10
Figura nº6 - Lesões perinasais num cão com diagnóstico de dermatite atópica canina. ....	10
Figura nº7 - Cão com diagnóstico de dermatite atópica canina e sinais marcados de conjuntivite alérgica, com hiperémia conjuntival e quemose.....	11
Figura nº8 - Fase de sensibilização de uma resposta alérgica ocular.....	18
Figura nº9 - Resposta nas fases inicial e tardia de uma hipersensibilidade mediada por IgE na alergia ocular.....	19
Figura nº10 - Cão diagnosticado com dermatite atópica canina e com sinais de conjuntivite alérgica bilateral muito marcados, nomeadamente alopecia e eritema periocular, hiperémia conjuntival, quemose e corrimento ocular bilaterais. ....	23
Figura nº11 - Olho de um cão com hiperémia conjuntival, quemose, corrimento ocular e epífora. Podemos também notar algum grau de alopecia periocular. ....	24
Figura nº12 - Observam-se lesões marcadas de hiperémia conjuntival, quemose e epífora no olho direito dum Bulldog Inglês com conjuntivite alérgica. ....	24
Figura nº13 - Olho de um cão com lesões de epífora e hiperémia conjuntival e com conjuntivite alérgica. De notar que o paciente apresenta concomitantemente distrofia lipídica central da córnea. ....	24
Figura nº14 - Cão com conjuntivite alérgica, alopecia periocular e corrimento ocular muito marcados.....	25
Figure 15 - Esquema ilustrativo das 3 camadas que compõem o filme lacrimal.....	29
Figure 16 - Causas mais importantes de Doença do "olho seco.....	33
Figure 17 - Aparelho usado para a medição da osmolaridade lacrimal, TearLab Osmolarity System® .....	38
Figure 18 - Parte móvel do aparelho denominada "caneta" que leva o kit na ponta e contata com o olho do animal.....	39
Figure 19 - Kits descartáveis utilizados no aparelho para medição da osmolaridade lacrimal. ....	39
Figure 20 - Avaliação da osmolaridade lacrimal num cão com conjuntivite alérgica. ....	39

## **Índice de Tabelas**

Tabela nº1 - Fatores de inclusão e exclusão na Fase 1 deste estudo. ....	35
Tabela nº2 - Critérios de inclusão e exclusão para a Fase 2 deste estudo. ....	36

## **Índice de Gráficos**

Gráfico nº1 - Osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo e no grupo atópico. ....	42
Gráfico nº2 - Osmolaridade do filme lacrimal entre o olho esquerdo e o olho direito do grupo controlo. ....	43
Gráfico nº3 - Osmolaridade do filme lacrimal entre o olho esquerdo e o olho direito do grupo atópico. ....	44
Gráfico nº4 - Correlação da osmolaridade do filme lacrimal com os CADESI-03 do grupo atópico. ....	45
Gráfico nº5 - Correlação da osmolaridade do filme lacrimal com o Score de CA. ....	46

## **Lista de abreviaturas**

AA – Ácido Araquidónico

Ac - Anticorpos

Ag – Antígenos

APC – Células apresentadoras de antígenos

CA – Conjuntivite Alérgica

CADESI-03 – *Canine atopic Dermatitis Extend and Severity Index-third version 3*

DA – Dermatite Atópica

DAC – Dermatite Atópica canina

FeLV – Vírus da Leucemia Felina

FIV – Vírus da Imunodeficiência Felina

IC – Intervalo de Confiança

ICAM-1 – Molécula de adesão intracelular

IgE – Imunoglobulina E

IL – Interleucinas

ITFCAD – *International Task Force on Canine Atopic Dermatitis*

M – Média

PIO – Pressão Intraocular

PCE – Proteína Catiónica Eosinofílica

S – Desvio Padrão

TAC – Tomografia Axial Computorizada

TBUT – *Tear Break-Up Time*

TNF  $\alpha$  – Factor  $\alpha$  de Necrose Tumoral

UTL – Universidade Técnica de Lisboa

VCAM – Molécula de Adesão das Células Vasculares

## I – INTRODUÇÃO

Esta tese encontra-se dividida em duas partes. Uma primeira onde são descritas todas as actividades realizadas durante o período de estágio e uma segunda onde se descreve o estudo realizado sobre avaliação da lágrima de cães atópicos com conjuntivite alérgica.

Recentemente foi realizado um estudo em cães, que conclui que 60% dos cães atópicos apresentam também CA (Lourenço-Martins *et al.*, 2011) o faz com que seja cada vez mais frequente o aparecimento destes casos na prática clínica.

Contrariamente ao que se passa no Homem, em que nos últimos anos se tem feito muita investigação sobre a CA, tal não acontece no cão. Pouco se sabe desta doença a nível da Medicina Veterinária e achamos que seria interessante investigar se alguns parâmetros se encontravam alterados, não só pela alta prevalência da doença entre os pacientes com DAc mas pelo desconforto e prurido ocular que provoca aos pacientes, assim como as consequências que a longo prazo podem aparecer, como seja a doença do “olho seco”.

Achou-se então interessante investigar um pouco mais sobre a CA e perceber que parâmetros podem estar alterados. Decidiu-se assim estudar um pouco a osmolaridade do filme lacrimal, pois esta é essencial a uma visão normal e para a manutenção de uma superfície ocular saudável, avaliando assim a integridade da mesma.

## **II – ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO**

O estágio curricular foi realizado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa (UTL), entre 1 de Março de 2012 e o dia 30 de Setembro de 2012, num total de 1384 horas de trabalho, sob a orientação da Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço e a co-orientação da Professora Doutora Esmeralda Delgado.

Estas 1384 horas foram divididas pelas várias componentes do hospital, nomeadamente Cirurgia, Internamento, Imagiologia e Medicina Interna, sendo que tive o especial interesse pelas áreas de Dermatologia e Oftalmologia, por isso acompanhei as respetivas consultas de referência. Devido a este interesse, optei pela escolha do meu tema de tese nesta área.

Durante o estágio, tive a oportunidade de relembrar, aprender e executar as técnicas, assim como aplicar muitos dos conhecimentos transmitidos ao longo o curso, sempre sob a orientação de um Médico Veterinário que me supervisionou e explicou a melhor maneira de executar os procedimentos.

Na área de Cirurgia, onde foram despendidas cerca de 300 horas do meu período de estágio, foi onde apliquei os meus conhecimentos de anestesiologia, acompanhando os animais antes, durante e depois da cirurgia, onde realizava a entubação endotraqueal, monitorizava, administrava os fármacos necessários e fazia os pensos. Também tive a possibilidade de auxiliar em procedimentos cirúrgicos, tanto oftálmicos como de ortopedia, mas principalmente na área de cirurgia de tecidos moles, onde consegui aplicar os meus conhecimentos sobre suturas e até executar alguns procedimentos como castrações. Auxiliei também na realização de Endoscopias e vídeo-otoscopias.

No Internamento, onde permaneci 432 horas, pude realizar os vários procedimentos a que os animais internados são sujeitos, sejam eles a colocação de cateteres, algaliação, recolha de sangue para análises, administração de fármacos pelas várias vias, curvas de glicémia, exames de diagnóstico requisitados, como por exemplo testes de estimulação com dexametasona e realização de transfusões sanguíneas. Tinha ainda a possibilidade de acompanhar todos os animais internados fazendo as suas monitorizações.

Na Imagiologia, que inclui Tomografia Axial Computorizada (TAC), Radiologia, Mielografia, Ecografia e a Endoscopia, que também assisti na área de cirurgia, auxiliei em todos os procedimentos acima mencionados, assim como nas anestésias que alguns destes procedimentos exigem. Tive também a orientação e auxílio na interpretação destes exames, para se poder chegar a um diagnóstico. Nesta área foram passadas 120 horas.

A Medicina foi a área onde passei a maior parte do meu estágio, 532 horas, onde pude assistir a consultas de Dermatologia, Endocrinologia, Oftalmologia, Oncologia, Neurologia,

Ortopedia, Cardiologia, Comportamento Animal e Medicina Interna. Em todas estas áreas realizei a parte inicial das consultas, onde recolhi a anamnese e executei o exame de estado geral, podendo este ser oftálmico, neurológico ou dermatológico. Tive também a oportunidade de acompanhar algumas sessões de quimioterapia.

Na Medicina Geral, para além do que já foi referenciado, foi-me dada a oportunidade preparar e administrar vacinas, fazer esquemas de desparasitações e vacinações nas primeiras consultas, corte de unhas, utilizar testes rápidos de diagnóstico (Parvovirose, FIV e FeLV, Dirofilariose e Leishmaniose), avaliação da pressão arterial, electrocardiogramas e sua interpretação, recolha de sangue para análises, algaliação, cateterização e limpeza e desinfeção de feridas. No Banco de Sangue da Faculdade de Medicina Veterinária colaborei em recolhas de sangue, tanto em cães como em gatos.

Na minha área de maior interesse, Dermatologia, pude realizar citologias, tricogramas e raspagens, assim como a sua interpretação, manejo de feridas, realização de testes intradérmicos, administração de imunoterapia específica, realização de biopsias cutâneas, testes alérgicos serológicos, vídeo-otoscopia, utilização e interpretação do teste da Lâmpada de Wood, assim como execução de relatórios no final de cada consulta onde se expunha o motivo da consulta, o plano de diagnóstico e a medicação a tomar. Acompanhei também a realização de uma nova técnica de testes cutâneos de alergias, os *prick tests* (testes epicutâneos) e uma nova técnica de imunoterapia, denominada RUSH.

Na área de Oftalmologia, realizei o exame oftálmico, que consiste em recolha da história pregressa, avaliação dos reflexos oculares, realização de testes de Shirmer, avaliação da pressão intraocular com o Tono-pen, teste da fluoresceína, exame de biomicroscopia com lâmpada de fenda e realização de fundoscopia em sala escura. No âmbito do tema da tese pude ainda realizar o “*Tear Break- Up Time*” (TBUT) e a avaliação da osmolaridade da lágrima com o aparelho Tearlab osmolarity system.

Estes 6 meses de estágio foram muito úteis à minha formação académica, profissional e pessoal.

### **III – AVALIAÇÃO DA OSMOLARIDADE DA LÁGRIMA DE CÃES ATÓPICOS COM CONJUNTIVITE ALÉRGICA**

#### **1 – Revisão Bibliográfica**

##### **1.1 – Dermatite Atópica**

A imunologia originalmente refere-se ao estudo da imunidade, isto é, a resistência adquirida a infecções naturalmente ou através de uma exposição intencional mediada por anticorpos (Ac) circulantes e/ou células T. O âmbito da imunologia foi alargado no fim do século XIX, quando se tentou induzir imunidade passiva e ativa resultando em reações adversas. A anafilaxia primeiramente foi descrita em 1902 e em 1906 Von Pirquet e Schick falaram pela primeira vez no termo alergia (Bielory, 2011, citando VanArsdel & Ledgerwood, 1990).

A Dermatite Atópica canina (DAc) é uma “doença multifatorial associada à exposição a vários agentes como alérgenos ambientais e alimentares” (Favrot *et al.*, 2010, tradução livre). Este termo é usado em Medicina Veterinária para descrever uma doença de pele prurítica e inflamatória, com predisposição genética, normalmente derivada de uma reação de hipersensibilidade do tipo I associada a Ac do tipo Imunoglobulinas E (IgE) e mais frequentemente dirigidos a alérgenos ambientais, apesar de também se poder manifestar com alérgenos alimentares (Halliwell, 2006; Olivry *et al.*, 2010). Esta doença apresenta-se de forma crónica e recorrente (Olivry *et al.*, 2010).

A via inalatória foi durante bastante tempo considerada a principal via de entrada de alérgenos no organismo dos animais, apesar de também se ter colocado a hipótese de poder ocorrer ingestão dos mesmos. Atualmente esta teoria foi posta de parte por haver falta de evidências que a provem no cão, ao contrário do que acontece no Homem. No presente, sabe-se que a principal via de penetração dos alérgenos é a transcutânea (Hill e Olivry, 2001; Marsella & Saridomichelakis, 2010).

Desde que a DA foi descrita, foram descobertas várias semelhanças entre a doença no Homem e nos animais de companhia, deixando no ar a hipótese de que estes possam ser utilizados como modelos da doença no Homem, para que melhor possamos compreender a sua patogénese (Marsella & Olivry, 2003; Lourenço-Martins, Peleteiro, Correia & Morais-Almeida, 2010).

### 1.1.1 – Patogenia

A fisiopatologia da DAC ainda não é inteiramente conhecida. No entanto cada vez existem mais estudos com o intuito de se desvendar tudo o que acontece nesta afeção.

Após o contato com o alergénio, existem vários fatores que vão condicionar a resposta do animal, tais como: os fatores genéticos, os tipos de células inflamatórias envolvidos (com relevância para os mastócitos, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos, células dendríticas e de Langerhans), pelos mediadores inflamatórios e pela existência de uma barreira cutânea alterada (Dethiox, 2006).

Na fase aguda da doença, pensa-se que defeitos da barreira cutânea facilitam o contato de alergénios ambientais (e possivelmente microorganismos) com as células do sistema imunitário presentes na epiderme (Olivry *et al.*, 2010).

As células apresentadoras de antígenos (*Antigen-Presenting Cells* - APC) presentes na epiderme ligam-se aos alergénios através de IgE específicas e migram para a derme e para os linfonodos regionais. Produtos microbianos e mediadores inflamatórios libertados por células do sistema imunitário ativam os queratinócitos que, por sua vez irão libertar quimoquinas e citocinas. As IgE ligam-se aos mastócitos fazendo com que haja libertação de histamina, proteases, quimoquinas e citocinas. Dá-se um influxo de granulócitos (neutrófilos e eosinófilos), linfócitos T e células dendríticas ao local. Há uma desgranulação dos mastócitos que leva à libertação de proteínas que vão provocar lesões na derme e na epiderme. Os linfócitos T (tipo-2 helper) libertam citocinas que promovem a síntese de IgE e eosinófilos. Os neuromediadores, o trauma auto-induzido e os micróbios também podem contribuir para a inflamação persistente nas lesões crónicas da pele. Existe um ciclo contínuo de libertação de citocinas que contribuem para o influxo e ativação de leucócitos e para a libertação adicional de mediadores pró-inflamatórios (Olivry *et al.*, 2010).

De uma maneira sucinta e simplificada o que se passa poderá ser resumido da seguinte forma: as células dendríticas e de Langerhans (ambas APC) processam e apresentam os antígenos (Ag) aos linfócitos T e estes libertam interleucinas que irão ativar os linfócitos B. São estas células que vão produzir imunoglobulinas, neste caso IgE que se irá ligar à superfície dos mastócitos cutâneos (fase de sensibilização). Posteriormente os mastócitos da derme, ao contatarem com os Ag para os quais o animal se encontra sensibilizado, proporcionam a ligação entre estes e as IgE que se encontram na sua superfície. Desta ligação advém a desgranulação dos mastócitos e eosinófilos, libertando substâncias inflamatórias (histamina, serotonina, enzimas, leucotrienos, citocinas e o Factor  $\alpha$  de Necrose Tumoral - TNF  $\alpha$ ). As substâncias inflamatórias que são libertadas juntamente com outras células inflamatórias vão



desencadear alterações vasculares relacionadas com a inflamação (vasodilatação, edema, prurido e quimiotaxia dos eosinófilos) e broncoconstrição - fase de libertação dos mediadores inflamatórios (Hill e Olivry, 2001).

### **1.1.2 - Incidência e fatores predisponentes**

Não existe um estudo que nos forneça uma ideia clara da prevalência de DAc. No entanto, têm sido sugeridos valores de cerca de 10% para a referida prevalência (Scott, Miller & Griffin, 2001), sendo estes resultados pouco credíveis.

No Homem, esta doença apresenta uma tendência para o aumento de incidência (Hillier & Griffin, 2001), especulando-se que o mesmo esteja a acontecer no cão apesar de, como se referiu anteriormente, não se saber ao certo a sua prevalência.

Lourenço-Martins (2010), apresenta como principais razões para este aumento o acréscimo e diversidade das técnicas de diagnóstico em dermatologia veterinária, o favoritismo por certas raças com predisposição para a doença bem como a alteração das relações Homem/cão, pois hoje em dia os animais co-habitam mais no mesmo ambiente que o Homem, partilhando também o seu estilo de vida. Por fim, a limitação dos passeios caninos, impedindo-os de contactar com o solo, diminuem a exposição a parasitas e agentes infecciosos, fatores estes que podem contribuir para um aumento da facilidade de sensibilização e manifestação da doença.

Inúmeras proteínas funcionam como Ag capazes de desencadear os mecanismos que causam DAc. Estas podem ter várias origens, ou ser provenientes de organismos como: ácaros do pó (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*), produtos da descamação cutânea do Homem e outros animais, penam, pólenes de árvores e gramíneas, esporos de fungos, leveduras e de insectos (Hill, 2009).

A DAc é considerada uma doença multifatorial pois, para além da sua predisposição genética, implica também uma reação de hipersensibilidade do tipo I a alergénios bem como uma barreira cutânea fragilizada com aumento da propensão para infeções secundárias bacterianas e/ou fúngicas (Nuttal, 2008).

A pele é uma barreira protetora, a maior, que separa o corpo do animal do seu ambiente externo. Esta tarefa é desempenhada, mais especificamente pelo estrato córneo. Este limita a entrada de agentes estranhos no organismo assim como controla os movimentos de entrada e saída de água por via cutânea. A sua função de barreira deve-se, maioritariamente, à descamação contínua que ocorre no estrato córneo permitindo a expulsão de agentes patogénicos. A sua fração lipídica une os corneócitos entre si e repele a água, sendo a

responsável pela sua função hidrofóbica. A mesma camada apresenta ainda péptidos antimicrobianos que, através de vários mecanismos, eliminam microorganismos (Mauldin, 2006).

Sabe-se que os animais com DAc têm uma alteração na barreira cutânea. Este defeito afeta a estrutura normal dos lípidos da camada superficial da pele havendo um aumento da perda de água trans-epidérmica, tendo assim a pele destes animais tendência para desidratar, sendo mais permeável à penetração de Ag (Dethiox, 2006, citando Inman *et al.*, 2001). Outra das causas apontadas é a deficiência em Factor  $\beta$  de Transformação e Crescimento, uma citocina imunossupressora, causando uma falta de tolerância da pele para com alergénios ambientais (Hill, 2009).

Como já foi referido, a predisposição genética nesta doença desempenha um papel importante, tornando também esta doença mais comum em certas raças (Hill, 2009). É, no entanto, necessária uma exposição aos alergénios e a contribuição de outros fatores para que os sinais clínicos da doença se manifestem, não se podendo desprezar a importância do ambiente circundante ao animal, como salientaram Hillier e Olivry (2004).

Nos estudos publicados consultados a maioria dos autores considera a raça como um fator predisponente. Apesar de estas variarem conforme as regiões, raças como o West Highland White Terrier, Labrador Retriever, Pastor Alemão, Golden Retriever, Boxer e Bulldog Inglês, Bouledogue Francês (Fravot *et al.*, 2009) e o Serra da Estrela (Lourenço-Martins, 2010) são as mais frequentemente mencionadas.

A idade de aparecimento dos primeiros sinais da doença é um dado importante, sendo que esta se manifesta normalmente em animais bastante jovens, entre os 6 meses e os 3 anos, podendo mais raramente aparecer até aos 7 anos de idade (Griffin & DeBoer, 2001; Olivry *et al.*, 2010). Num estudo efetuado por Fravot *et al.* (2009), numa população de 843 indivíduos, dois terços dos cães estudados exibiram os primeiros sinais até aos 3 anos, numa média de 2,2 anos. No mesmo estudo foi constatado não existir predisposição de género para a doença, podendo ser afetados tanto fêmeas como machos em igualdade de circunstâncias.

A sazonalidade desta doença é consensual. Basta pensar-se na sazonalidade de certos alergénios, como é o caso dos pólenes, que podem afectar a manifestação da DAc. No entanto, o mais comum é que o animal seja sensibilizado para os acáros que estão presentes durante todo o ano, afectando de forma contínua o paciente (Griffin & DeBoer, 2001).

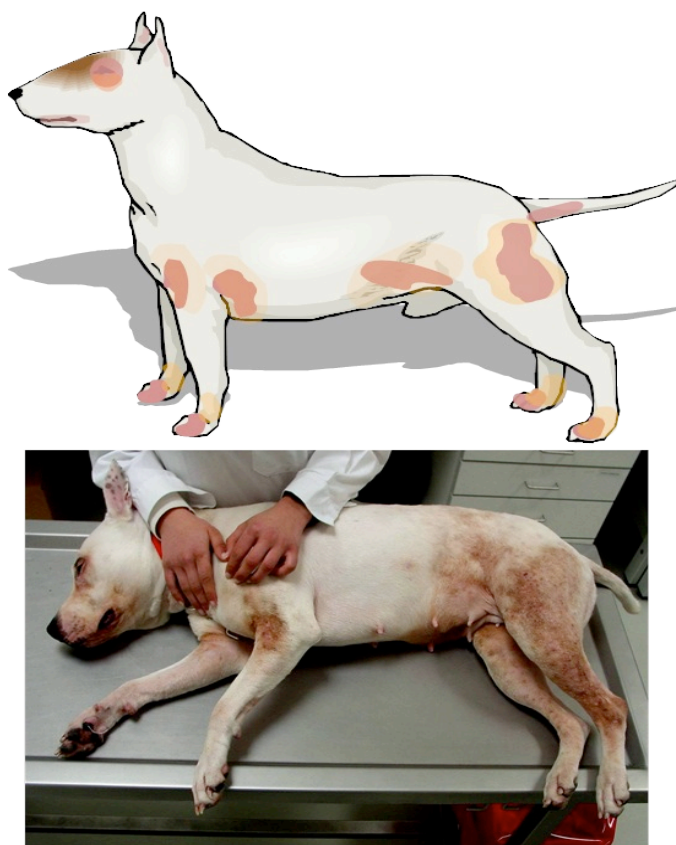
### 1.1.3 – Sinais Clínicos relevantes e distribuição lesional

A distribuição lesional desta doença é variável, sendo as zonas mais frequentemente afetadas, o focinho, a face côncava do pavilhão auricular, a face ventral do pescoço, as axilas, as virilhas, o abdómen, a zona do períneo, a face ventral da cauda e por fim as zonas palmares e mediais das extremidades (Olivry *et al.*, 2010). Muitos dos animais apresentam lesões nas zonas dorsal e palmar das patas, principalmente na região interdigital (Fravot *et al.*, 2009).

Lesões perioculares e perinasais podem refletir a existência de CA ou rinite respetivamente (Olivry *et al.*, 2010). A figura nº1 ilustra a distribuição lesional da DA.

Quando observamos o animal, este pode também encontrar-se afetado por infeções secundárias, provocadas tanto por bactérias como por fungos (*Malassezia spp.*) e por otites, muitas vezes também um sinal bastante precoce da doença (Fravot *et al.*, 2009). Podem surgir animais com história de lacrimejamento, congestão ocular, ou seja, CA, espirros ou rinite (Olivry *et al.*, 2010). Portanto, é possível que as manifestações clínicas que não se enquadrem no quadro dermatológico estejam a ser subdiagnosticadas (Griffin & DeBoer, 2001).

Figura nº1 - Distribuição esquemática das lesões de dermatite atópica canina (Gentilmente cedida pela Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço).



O prurido é o principal sinal clínico desta doença. Muitas vezes, antes de aparecerem as lesões, o animal já o exibe (Olivry *et al.*, 2010).

As lesões primárias que esperamos encontrar são máculas, eritema, manchas e pequenas pápulas. No entanto, a maioria dos pacientes poderá apresentar lesões secundárias como lesões traumáticas devido a lambedura e mordedura como: escoriações, alopecia auto-induzida, liquenificação e hiperpigmentação cutânea (Olivry *et al.*, 2010). As figuras nº 2, 3, 4, 5, 6 e 7 ilustram lesões de DAc.

Figura nº2 - Zona abdominal que apresenta ligeiro eritema, com lesões de liquenificação e hiperpigmentação num cão com diagnóstico de dermatite atópica canina (Original da autora).



Figura nº3 - Lesões eritematosas na zona da vulva (onde já existe liquenificação) e face ventral da cauda induzidos por lambedura num cão com dermatite atópica canina (Original da autora).

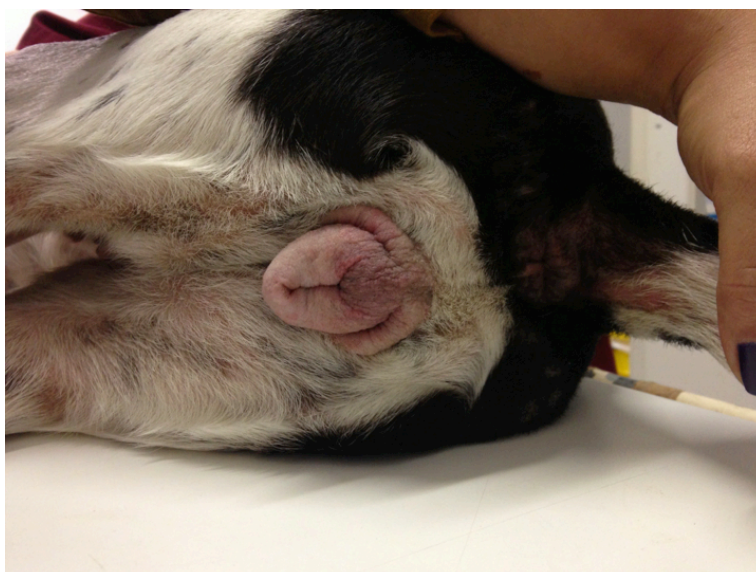


Figura nº4 - Granuloma por lambedura na pata de um Bulldog Inglês com dermatite atópica canina (Original da Autora).



Figura nº5 - Lesões interdigitais eritematosas por lambedura num cão com dermatite atópica canina (Original da autora).



Figura nº6 - Lesões perinasais num cão com diagnóstico de dermatite atópica canina (Original da autora).





Figura nº7 - Cão com diagnóstico de dermatite atópica canina e sinais marcados de conjuntivite alérgica, com hiperémia conjuntival e quemose (Original da autora).



O diagnóstico de DAc baseia-se essencialmente na história do paciente, nos seus sinais clínicos, na história da doença e exclusão de outras causas de prurido (Olivry *et al.*, 2010).

É muito importante perceber que podem existir dermatoses que podem mascarar a existência desta afeção ou mesmo sobrepôr-se a ela, como doenças parasitárias (por exemplo sara sarcótica), infeções (Piodermatite superficial por *Staphylococcus pseudintermedius*, Dermatite por *Malassezia*). Assim, para um diagnóstico fidedigno desta doença teremos que excluir todas estas causas (Olivry *et al.*, 2010).

É consensual que o uso de testes intradérmicos ou serologia para IgE específica não deve ser usado para diagnóstico desta doença, tendo em conta que animais saudáveis podem apresentar resultados positivos e não apresentarem a doença (Olivry *et al.*, 2010).

Para facilitar diagnóstico desta afeção foi criado por Favrot's (2010) um conjunto de critérios (Anexo I), no entanto a sua utilização não dispensa o que foi dito anteriormente.

## 1.2 - Conjuntivite alérgica

### 1.2.1 – Introdução

As alergias são uma resposta de hipersensibilidade do sistema imunitário a alérgenos comumente encontrados e inofensivos (Irkec & Bozkurt, 2012). O olho representa o local ideal para reações alérgicas, sendo assim uma localização muito frequente deste tipo de patologia. Isto deve-se em parte à inexistência de uma barreira mecânica que previna o

contato dos alérgenos com a superfície ocular. No entanto o olho raramente é o único alvo de uma reação alérgica. Por vezes, os sinais oculares são os mais proeminentes quando a deslocação ao médico (Bielory, 2011).

A CA foi primeiramente reconhecida clinicamente como uma doença por Bostock (1819). Estudos subsequentes realizados por Bonini & Ghinelli (2000) demonstraram que envolvia uma reação de hipersensibilidade do tipo I (Giavina-Bianchi, Kalil & Rizzo, 2008).

O termo CA refere-se a um conjunto de afeções por hipersensibilidade que afetam a pálpebra, conjuntiva e/ou a córnea (Leonardi, Mortterle & Bortolotti, 2008). É definida como uma resposta inflamatória iniciada por reações de hipersensibilidade do tipo I, após exposição a um alérgeno (Marback, Freitas, Paranhos Junior & Belfort Junior, 2007; Ono & Abelson, 2005). É causada por uma exposição direta da superfície da mucosa ocular ao ambiente e é a mais comum das respostas de hipersensibilidade do olho (Bielory, 2000). A barreira externa, incluindo a pele e as mucosas, forma o maior órgão do corpo. Como resultado, este está constantemente suscetível a inúmeras agressões ambientais e mesmo assim mantém a sua homeostase. A sua função de barreira, tanto mecânica como imunológica, protege as camadas contra as constantes agressões. As disfunções desta barreira ao nível da mucosa ocular são comuns (Bielory, 2011).

A defesa ocular depende em grande parte da integridade anatómica das suas estruturas externas, ou seja, das pálpebras, lágrimas, conjuntiva e córnea (Todo-Bom, 1998).

A conjuntiva é a mucosa que cobre quase todo o globo ocular, e também a face interna das pálpebras inferior e superior e a totalidade da terceira pálpebra. A anatomia e fisiologia desta mucosa é semelhante à da mucosa nasal, pelo que as reações alérgicas nos dois locais são semelhantes (Friedlaender, 2011). Isto poderá explicar a frequente associação entre a rinite e a conjuntivite, entre outros fatores. O globo ocular tem no entanto um sistema imunológico único, não possuindo linfonodos na órbita, glândula lacrimal, pálpebras e conjuntiva. Os linfócitos residem assim, na substância própria dos ácinos da glândula lacrimal e da conjuntiva (Bielory, 2011).

A CA, afeção alérgica localizada, é associada muitas vezes com rinite, e por vezes, é a única manifestação da existência desta doença alérgica (Leonardi *et al.*, 2008; Bielory, 2011). A conjuntiva representa a extremidade superior do sistema respiratório, que mantém um sistema de comunicação com o nariz pelo ducto nasolacrimal, assim os alérgenos, os mediadores libertados e os fármacos aplicados ao nível do globo ocular irão contribuir para a sintomatologia nasal (Ono & Abelson, 2005).

A resposta alérgica ocular resulta da exposição da conjuntiva aos alérgenos ambientais e da sua ligação aos recetores específicos de IgE, que se encontram nos mastócitos conjuntivais,

presentes em grande número na mucosa conjuntival (Leonardi *et al.*, 2008). Tal fato, juntamente com o seu enorme potencial para a síntese de IgE, torna o globo ocular propício a reações alérgicas (Leonardi, Dominicis & Motterle, 2007). Esta resposta é imediata, e pode ser observada clinicamente durante 20-30 minutos, como demonstrado nos testes de provocação conjuntival (Martins-Lourenço *et al.*, 2011).

Esta doença pode variar entre as formas menos graves que, mesmo assim, afetam significativamente a qualidade de vida do paciente, até formas mais graves caracterizadas por afetar a função visual (Leonardi *et al.*, 2008).

### **1.2.2 – Anatomia do olho**

O olho é constituído essencialmente por quatro camadas comumente envolvidas em reações imunológicas: a porção anterior, que consiste no filme lacrimal e na conjuntiva, que proporciona uma barreira primária contra alérgenos ambientais, químicos e agentes infecciosos; a córnea; a úvea, muito vascularizada, onde se dá a produção do humor aquoso, que está predominantemente envolvida em reações inflamatórias associadas aos complexos imunes circulantes e a reações de hipersensibilidade mediadas por células; e finalmente a retina, que é funcionalmente uma extensão do sistema nervoso central (Bielory, 2011).

#### **1.2.2.1 – Filme lacrimal e conjuntiva**

As pálpebras têm na sua constituição uma estrutura fibroelástica, o tarso, envolvidas por uma camada muscular e por um tegumento cutâneo. Possuem uma grande rede vascular e linfática, bem como glândulas cuja secreção é muito importante na atividade bactericida do filme lacrimal. Nestas estruturas existem um grande número de mastócitos residentes (Flament & Stork, 1997).

As lágrimas são um importante meio de defesa inespecífico pela sua riqueza em ácidos gordos, muco, lisozima e proteínas inflamatórias, que aumentam se existir a uma agressão. Possuem também diversos produtos com origem no sangue resultantes de transudação vascular e produção local (Flament & Stork, 1997).

A conjuntiva é uma estrutura mucosa, como já foi mencionado, constituída por tecido epitelial misto do tipo pavimentoso estratificado na conjuntiva tarsal e cilíndrico na bulbar e encontra-se apoiada numa camada basal. Aí permanecem várias células de defesa, nomeadamente



linfócitos, plasmócitos e neutrófilos. Sob a membrana basal existe um estroma, constituído por tecido conjuntivo com um sistema vascular plexiforme e células linfóides. Neste estroma observam-se mastócitos intimamente ligados aos pequenos vasos sanguíneos. O limbo, zona de junção entre a córnea e a conjuntiva, é muito vascularizado e com elevado número de mastócitos (Todo-Bom, 1998).

### **1.2.2.2 – Córnea**

“Imagina a vida no ambiente mais exposto do planeta – A Córnea” (McMenamin, 2008; tradução livre). Esta é constantemente afetada por variações de temperatura, vento e radiações ultravioleta, no entanto esta tem que se proteger contra a entrada de bactérias e vírus (McMenamin, 2008). A córnea que é isenta de vascularização sanguínea ou linfática contém à superfície elevadas quantidades de imunoglobulinas e de complemento. É composta por 5 camadas: o epitélio, a camada de Bowman, o estroma, a membrana de Descemet e o endotélio. A sua resposta inflamatória desenvolve-se no limbo perto dos vasos (Rigal, 1993). Todas as imunoglobulinas podem estar presentes no epitélio, a nível das células basais, isoladas ou agrupadas, no entanto estas encontram-se no limbo em maior número. São maioritariamente originárias do setor vascular embora também possam vir do humor aquoso ou das lágrimas. As frações do complemento também terão origem no limbo sofrendo em seguida difusão central (Faure, Blech-Michel, Le Hoang & Vadot, 1998).

Os mastócitos e os basófilos têm capacidade de responder quando entram em contato com o alérgeno pela ligação ao receptor de alta afinidade para IgE. Estes constituem ainda um importante fonte de citocinas como IL 4, IL 5, IL 6 e TNF  $\alpha$ . Os linfócitos, elementos essenciais à resposta alérgica, localizam-se na periferia do limbo, do epitélio e do estroma anterior. Os folículos são constituídos por linfócitos compactados em diferentes graus de diferenciação, localizados logo abaixo do epitélio da conjuntiva (Todo-Bom, 1998).

As células dendríticas, são consideradas sentinelas e as principais APC do corpo, são particularmente abundantes nas partes fronteiriças, como a epiderme, e o epitélio do trato respiratório, onde os tecidos contactam com o ambiente hostil e rico em patógenos como o ambiente (McMenamin, 2008).

### 1.2.3 – Fisiopatologia

As alterações patológicas da CA com lesões conjuntivais são causadas pela interação entre várias células do sistema imunitário e células residentes. Estas são mediadas por substâncias fisiológicas ativas, como a histamina, os leucotrienos, citocinas e quimoquinas (Takamura *et al.*, 2011).

Uma doença alérgica do olho envolve alterações mediadas por IgE, alterações mediadas por linfócitos T ou as duas. É uma resposta imunitária adaptativa com a presença de alérgenos na superfície ocular. A principal função desta resposta do sistema imunitário é a discriminação entre o que é próprio (*self*) e não próprio (*non-self*), visando a eliminação do que considera estranho. Os dois níveis de defesas contra esta invasão por agentes estranhos são a imunidade inata (mecanismo de defesa primordial ainda com o Ag não específico) e imunidade adquirida (mecanismo de defesa mais adaptado já face a um Ag específico). A proteção contra substâncias e Ag estranhos é feita pela imunidade inata mas quando esta excede o seu limite, a imunidade adquirida entra em ação (Chigbu, 2009).

A imunidade inata está presente desde o nascimento e as superfícies corporais (pele e membranas mucosas) providenciam uma barreira física contra substâncias estranhas e infeções, que é reforçado pelas secreções. As células deste sistema são os monócitos, macrófagos, basófilos, eosinófilos, células natural killer e citocinas (Chigbu, 2009).

A imunidade adquirida é composta por imunidade humoral mediada por linfócitos B e pela imunidade celular mediada por linfócitos T. A imunidade humoral é uma resposta adaptada do sistema imunitário que envolve a produção de citocinas Th2, que atuam para alertar as células B para produzir Ac em resposta a Ag. A imunidade celular envolve a produção de Ag específicos de linfócitos T citotóxicos e linfócitos T CD4<sup>+</sup> incluindo citocinas em resposta a um estímulo. Este tipo de imunidade adquirida irá melhorar quanto mais exposta for a Ag e envolve APC, ativação e proliferação de linfócitos, diferenciação de linfócitos em células de memória e ainda citocinas (Chigbu, 2009).

Os mecanismos biológicos que estão na base da alergia ocular parecem ser distintos dos que estão presentes nas doenças alérgicas que afetam outras partes do corpo. Esta complexidade é atribuída às características imunológicas únicas do segmento anterior do olho e aos mecanismos específicos em que as células estruturais (células epiteliais e fibroblastos) interagem com as células inflamatórias que infiltram a conjuntiva (Bonini *et al.*, 2009).

A gravidade da CA vai depender bastante de dois fatores: a resposta dos mastócitos e a quantidade de Ag que entra em contato com o olho (Fujishima *et al.*, 1996).

A reação alérgica ocular é uma resposta de hipersensibilidade e é IgE dependente (Torkildsen, Workman & Plumer, 2005).

O limbo e a conjuntiva são ricos em células de Langerhans, que são capazes de iniciar uma resposta imunitária quando encontram um Ag, contribuindo assim para uma normal resposta de defesa do globo ocular (Irkec & Bozkurt, 2012; Chigbu, 2009).

A fase de sensibilização corresponde à primeira fase, que ocorre cerca de vinte a quarenta minutos após a exposição (Figura nº8), onde um novo alergénio (pólen, ácaros, epitélios de animais) contata com a superfície ocular, mais propriamente a conjuntiva (Irkec & Bozkurt, 2012; Chigbu, 2009). Estas partículas são capturadas e processadas por células de Langerhans, células dendríticas ou outras APC. Os Ag são assim transportados por estas e apresentados aos linfócitos Th0, que expressam recetores específicos de Ag e reconhecem os seus péptidos (Bonini *et al.*, 2009). Esta reação leva à ativação dos linfócitos T4 e subsequente diferenciação em linfócitos Th2 (Chigbu, 2009).

São necessários muitos contatos e várias trocas de citocinas entre os APC e as células T para induzir uma reação do tipo Th2. As citocinas libertadas pelos linfócitos T helper (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e fator estimulador das colónias de macrófagos e granulócitos) estimulam a produção de IgE pelas células B (Bonini *et al.*, 2009). No entanto é a interação entre os linfócitos Th2 e os B que mantem a estimulação para a libertação de citocinas (Chigbu, 2009). Os linfócitos B, que reconhecem os mesmos alergénios que induzem a diferenciação dos linfócitos Th2, na presença de IL-4 e outros sinais de moléculas acessórias diferenciam-se em células produtoras de Ac plasmáticos, levando assim à produção de IgE específicas. Estes Ac tornam-se bastante específicos para um determinado Ag e ligam-se á superfície dos mastócitos e basófilos, passo este que coloca sobre aviso os mastócitos para uma subsequente exposição (Chigbu, 2009).

O segundo passo na patologia da CA de um indivíduo sensibilizado, ou seja quando há uma re-exposição, é a ativação dos mastócitos residentes na mucosa conjuntival e a ligação de Ac específicos, isto é, IgE na superfície celular com a ajuda de receptores de alta afinidade. Esta ligação aos mastócitos vai alterar a permeabilidade da sua membrana ao cálcio, provocando assim a sua mobilização (Chigbu, 2009). Então, a exposição de indivíduos sensibilizados a alergénios ambientais causa a ligação de IgE ao nível na membrana dos mastócitos que vai iniciar uma desgranulação mastocitária (devido à mobilização do cálcio) com a libertação de histamina, triptase, prostaglandinas e leucotrienos na lágrima e ainda ativação da fosfolipase A<sub>2</sub>, pelo aumento do influxo de cálcio para libertar ácido araquidónico (AA) (Irkec & Bozkurt, 2012; Bonini *et al.*, 2009; Chigbu, 2009). Estes mediadores desencadeiam as

manifestações clínicas da fase aguda da doença, fase inicial ou de ativação (Bonini *et al.*, 2009). Esta fase encontra-se representada na figura nº9.

A desgranulação dos mastócitos também induz a ativação de células do endotélio vascular que vão produzir quimoquinas e moléculas de adesão como a molécula de adesão intracelular (*intercelular adesion molecule* I ou ICAM-1), a molécula de adesão das células vasculares (VCAM) e fatores quimoestáticos como IL-8 e eotaxina. Estes fatores iniciam a fase de recrutamento de células inflamatórias ativas para a conjuntiva (Bonini *et al.*, 2009).

A reação da fase tardia ou retardada à estimulação do alérgénio que ocorre quatro a seis horas após a exposição é caracterizada pela recorrência ou prolongamento dos sintomas devido à infiltração e ativação de linfócitos Th2, eosinófilos, neutrófilos e basófilos na mucosa conjuntival (Bonini *et al.*, 2009; Irkeç & Bozkurt, 2012; Chigbu, 2009). Esta fase (Figura nº9) corresponde a uma inflamação persistente que caracteriza os sintomas oculares nos casos de doenças alérgicas crónicas: infiltração da mucosa por eosinófilos, neutrófilos, basófilos e linfócitos T, ou seja, um influxo típico de células inflamatórias não específicas (Bielory, 2000; Leonardi *et al.*, 2008).

A histamina é o primeiro mediador da reação alérgica e é também o único mediador que por si só pode causar quase todos os sintomas da alergia, ou seja, prurido, hiperémia, quemose e epífora. Após a desgranulação dos mastócitos, a histamina vai ligar-se a recetores localizados na conjuntiva, que são os recetores H1 e H2 do endotélio vascular e vai induzir uma dilatação endotelial, enquanto que a sua ligação ao H1 nas células nervosas irá induzir prurido, hiperémia e quemose. É também o único mediador que, quando libertado, causa prurido, um dos sinais mais importantes de alergia ocular (Torkildsen, Workman & Plumer, 2005). A histamina vai também estimular os vasos sanguíneos, nervos e glândulas produtoras de muco o que acentua ainda mais os sinais de CA (Chigbu, 2009).

As células epiteliais da conjuntiva e da córnea e os fibroblastos podem contribuir para manter a inflamação alérgica, expressando e produzindo citocinas, quimoquinas, moléculas de adesão e fatores que mantêm a inflamação local e levam à remodelação tissular (Leonardi *et al.*, 2008).

Os eosinófilos são células com grande importância no desenrolar da doença, pois libertam várias proteínas citotóxicas que infiltram localmente a conjuntiva e provocam alterações profundas (Takamura *et al.*, 2011). Vários mediadores libertados pelos mesmos, como a Proteína Catiónica Eosinófila (EPC), têm sido detetados na lágrima de pacientes humanos, assim como a expressão da ICAM-1 que promove a migração dos eosinófilos para o tecido conjuntivo (Bielory, 2000).

Figura nº8 - Fase de sensibilização de uma resposta alérgica ocular (Adaptado de Chigbu, 2009).

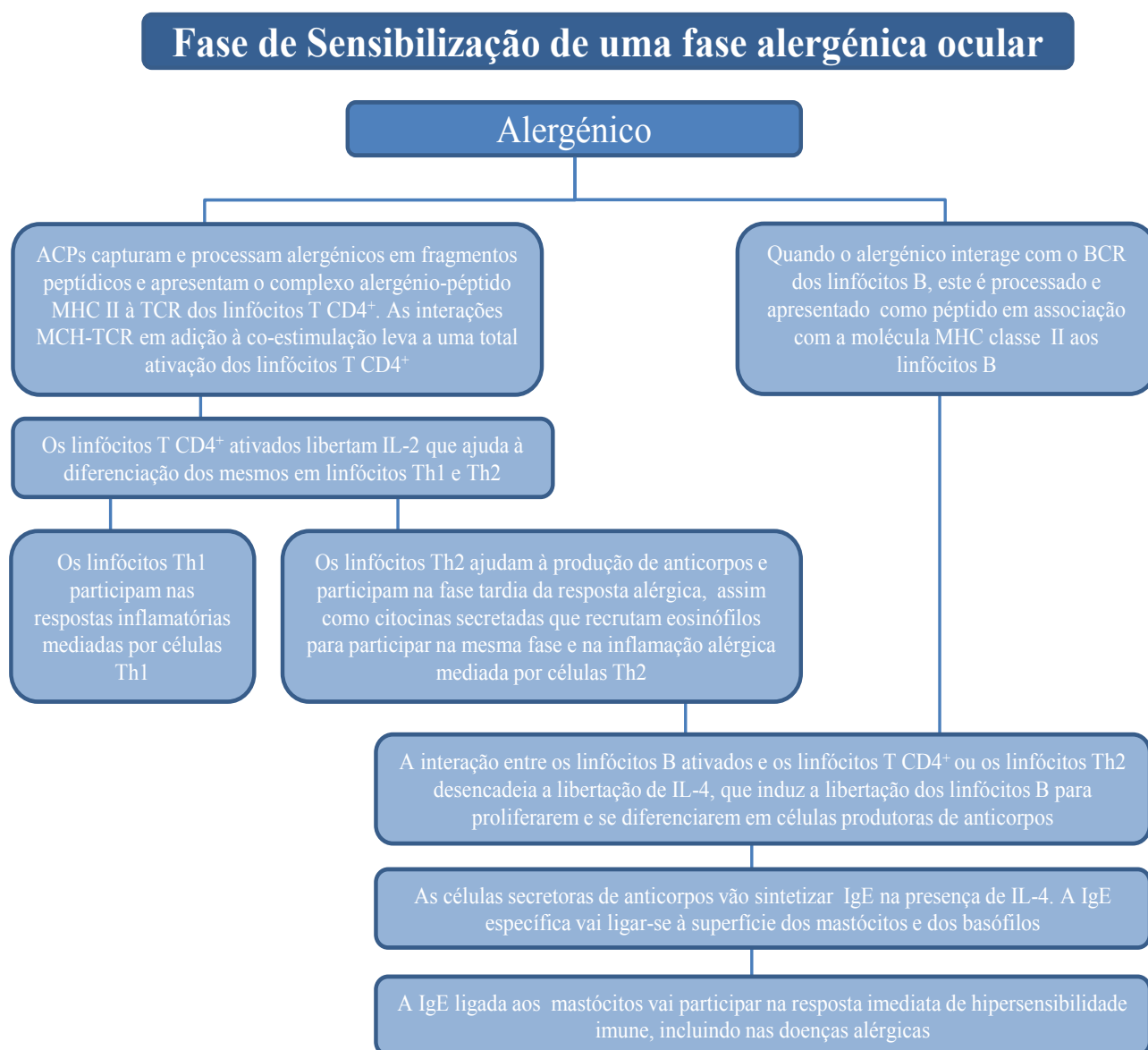


Figura nº9 - Resposta nas fases inicial e tardia de uma hipersensibilidade mediada por IgE na alergia ocular (Adaptado de Chigbu, 2009).



#### 1.2.4 – Incidência

“Allergic conjunctivitis: the forgotten disease” é o título de um artigo escrito por Bonini (2006), médico oftalmologista e investigador de renome nesta área, que nos relembra que esta doença, apesar de ser uma manifestação comum da atopia, se encontra subdiagnosticada. A razão mais plausível para tal prende-se com o fato de quando um paciente, seja ele humano ou canino, apresenta manifestações alérgicas ser encaminhado para o serviço da especialidade, ou seja, dermatologia ou alergologia, e não para oftalmologia, passando muitas vezes

despercebido este sintoma pela maior gravidade dos sinais cutâneos ou por falta de sensibilização para esta doença.

Sendo essa a opinião do investigador, e para provar a sua teoria, em 2010, Bonini e os seus colaboradores fizeram um estudo com 2206 pacientes alérgicos. Esses pacientes foram observados por 4 especialidades diferentes: alergologia, dermatologia, pneumologia e oftalmologia. Cada uma delas manteve a abordagem normal respetiva.

Após observação foi registado para cada paciente a presença ou ausência de CA. No final foram revistos os dados, consoante a especialidade, tendo-se obtido o diagnóstico da doença em 45% dos pacientes (alergologistas), 10% dos pacientes (dermatologistas), 90% dos pacientes (oftalmologistas) e 25% dos pacientes (pneumologistas).

Na continuação deste estudo, o mesmo grupo de especialistas observou mais 1546 pacientes, mas desta vez com um exame clínico pré-definido e não conforme a especialidade. Neste caso, o número de CA diagnosticadas aumentou muito significativamente em todos os grupos, à exceção da oftalmologia. Findo o supra referido estudo, ficou claro que a variabilidade de resultados obtidos se deve a um grande foco individual nas áreas de especialização, e que discrepâncias verificadas podem ser ultrapassadas com uma sensibilização para o problema em questão e uma maior uniformidade na observação dos pacientes.

Em Medicina Veterinária pouco existe descrito acerca desta doença. No entanto, salientamos um estudo feito em 2011, em que um grupo de 60 cães com diagnóstico de DAc foi avaliado por duas especialidades diferentes, dermatologia e oftalmologia, com vista à deteção ou não de CA. Os resultados positivos obtidos foram 16% (dermatologia) e 60% (oftalmologia), provando mais uma vez a existência de grandes discrepâncias de diagnóstico, dependendo da especialidade a que se recorre. Neste último estudo, constatou-se algo bastante interessante: nos 60 pacientes observados, 14 deles já tinham sido referenciados pelo Médico Veterinário assistente para o serviço de oftalmologia, devido a queixas relacionadas com prurido ocular, sem existir qualquer doença ocular primária; mais tarde, devido a sintomatologia cutânea foram então enviados para o serviço de dermatologia (Lourenço-Martins *et al.*, 2011).

### **1.2.5 - Conjuntivite alérgica no Homem**

As doenças alérgicas oculares incluem um espectro de diferentes entidades clínicas com várias apresentações (Bonini *et al.*, 2009).

Estima-se que os sintomas oculares estão presentes em cerca de 40-60% da população alérgica (Leonardi *et al.*, 2008).

No Homem a classificação da CA inclui quatro graus, sendo eles a CA sazonal e perene, a Queratoconjuntivite atópica, a Queratoconjuntivite vernal e Conjuntivite do papilomatosa gigante (Uchio *et al.*, 2008). Estima-se que das CA no Homem, 90% sejam CA sazonal e perene (Torkildsen, Workman & Plumer, 2005; Sanchez *et al.*, 2011).

Para o Homem existem vários sistemas de classificação para esta doença, não existindo um consenso sobre os mesmos. No sistema proposto por Leonardi, Mortterle e Bortolotti (2008), divide-se a CA em dois grupos principais, baseando-se na sua prevalência e gravidade: o primeiro, onde se incluem as formas mais frequentes desta afeção, inclui a CA sazonal e perene (que pode também ser designada por rinoconjuntivite ou rino-conjuntivite dependendo dos sintomas). Estas formas de conjuntivite são diagnosticadas e tratadas por clínicos gerais, alergologistas, pediatras e oftalmologistas, mas mais frequentemente por farmacêuticos ou mesmo pelo próprio doente. O segundo grupo inclui formas menos frequentes da doença mas também mais graves e crónicas, sendo estas a Queratoconjuntivite vernal e a Queratoconjuntivite atópica, a qual se poderá complicar com o envolvimento da córnea e que requer um seguimento por oftalmologistas em associação com alergologistas.

A CA sazonal (Primavera ou Outono) ou perene (todo o ano) envolve ambos os olhos mas não induz alterações graves na superfície ocular. No caso da CA sazonal, trata-se de uma doença aguda que se caracteriza por picos de sinais auto-limitantes, ou seja, hiperémia, prurido, corrimento ocular, e é maioritariamente causada por uma polinose. A CA perene é normalmente devida a ácaros, epitélio de animais e alergénios que possam estar presentes durante todo o ano. Os sintomas são os mesmos que na sazonal mas estão presentes durante todo o ano, com algumas exacerbações dependendo da sensibilidade de cada indivíduo (Bonini *et al.*, 2009).

A Queratoconjuntivite Vernal é uma forma mais grave de doença alérgica que geralmente afeta crianças, principalmente o sexo masculino. Caracteriza-se pela presença de lesões no epitélio da córnea e no estroma, alterações proliferativas da conjuntiva e alterações a nível do limbo. São pacientes sensibilizados para vários alergénios em geral. Pode apresentar-se com duas formas: a tarsal e a limbal, e podemos visualizar um papiloma gigante na conjuntiva tarsal superior e infiltrados gelatinosos no limbo, respetivamente. Os pacientes queixam-se de fotofobia grave, prurido muito intenso, lacrimejamento, corrimento ocular mucoso e sensação de corpo estranho que se deve às irregularidades da superfície conjuntival e à secreção intensa de muco (Bonini *et al.*, 2009).

Na Queratoconjuntivite Atópica existe normalmente uma história familiar de alergias, asma ou urticária. Tipicamente o paciente sofre de DA ou Eczema desde a infância, mas só desenvolve sintomas oculares mais tarde. Apresenta prurido ocular bilateral, das pálpebras e



das áreas periorbitais, lacrimejamento, fotofobia, visão alterada e corrimento ocular mucoso (Bonini *et al.*, 2009).

### **1.2.6 - Sinais Clínicos**

Os sintomas da CA são influenciados pela genética, por fatores ambientais, pela microbiota ocular e por mecanismos de regulação imunitária, todos eles trabalhando juntos numa resposta imunológica complexa (Irkeç & Bozkurt, 2012). A variedade de sinais clínicos da CA aguda está claramente relacionada com a quantidade de alérgeno que contata com a conjuntiva (Abelson, Chambers & Smith, 1990).

O chamado “olho vermelho” é uma apresentação comum de doença ocular, sendo a conjuntivite a causa mais provável. Esta pode ser infecciosa (bacteriana ou viral), tóxica/irritativa ou alérgica e existem ainda formas descritas relacionadas com doenças sistêmicas como as auto-imunes (Irkeç & Bozkurt, 2012).

Os sinais são normalmente bilaterais, mas o grau de envolvimento de cada olho pode variar (Bielory, 2000), como podemos observar na figura nº10. A tríade conjuntival de hiperémia, quemose e prurido é uma boa descrição da CA (Friedlaender, 2011).

Apesar do prurido ocular ser communmente associado à CA, alguns pacientes com blefarite, olho seco e conjuntivite irritativa e não alérgica também podem apresentar esse sintoma (Friedlaender, 2011).

Figura nº10 - Cão diagnosticado com dermatite atópica canina e com sinais de conjuntivite alérgica bilateral muito marcados, nomeadamente alopecia e eritema periocular, hiperémia conjuntival, quemose e corrimento ocular bilaterais (Original da autora).



O sinal principal de CA é o prurido. Sem este existir a afeção não deve ser considerada alergia ocular, mas a sua existência por si só não é patognomónica. O prurido é acompanhado por uma vasodilatação superficial (hiperémia), podendo também estar presentes quemose, lacrimejamento ou epífora (Ono & Abelson, 2005). A epífora está associada a uma alteração da circulação nos vasos sanguíneos e linfáticos da conjuntiva palpebral e a quemose a uma saída dos componentes do plasma dos vasos (Takamura *et al.*, 2011). Podemos observar em algumas circunstâncias edema das pálpebras (Bielory, 2000). O lacrimejamento muito intenso numa fase inicial pode induzir mudanças estruturais nas fibras de colagénio da pele que circunda o olho (Ono & Abelson, 2005). Alguns pacientes podem ainda apresentar rinorreia e espirros (Takamura *et al.*, 2011). Em alguns casos mais graves, pode existir envolvimento da córnea, apresentando o paciente sinais de fotofobia e queratite (Bielory, 2000). As figuras nº11, 12, 13 e 14 ilustram os sinais mais comuns de CA.

Considerando que os alergénios causam CA penetrando a conjuntiva, o filme lacrimal e o epitélio conjuntival pela via aérea, uma provocação tópica da conjuntiva (testes de provocação conjuntival) será sempre uma rota preferencial para a indução da resposta alérgica e, independentemente do alergénio usado, os sinais inflamatórios irão ser semelhantes em todas as circunstâncias, ou seja, edema e eritema palpebral e/ou conjuntival e lacrimejamento, bem como corrimento ocular (Calonge, Siemasko & Stern, 2003).

Figura nº11 - Olho de um cão com hiperémia conjuntival, quemose, corrimento ocular e epífora. Podemos também notar algum grau de alopecia periocular (Gentilmente cedida pela Professora Doutora Esmeralda Delgado).



Figura nº12 - Observam-se lesões marcadas de hiperémia conjuntival, quemose e epífora no olho direito dum Bulldog Inglês com conjuntivite alérgica (Original da autora).

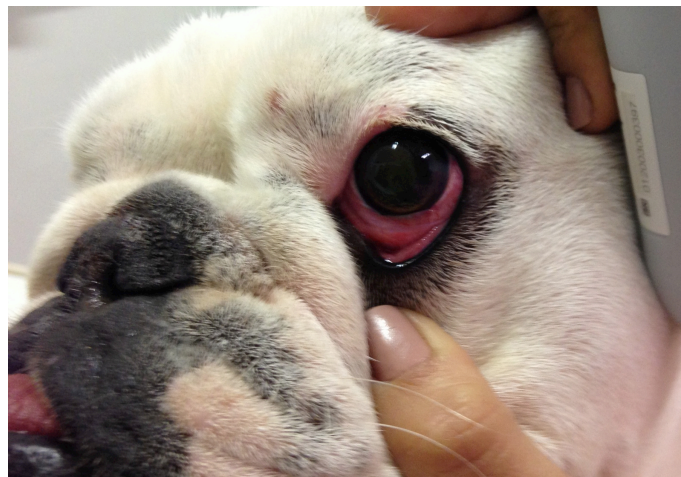


Figura nº13 - Olho de um cão com lesões de epífora e hiperémia conjuntival e com conjuntivite alérgica. De notar que o paciente apresenta concomitantemente distrofia lipídica central da córnea (Gentilmente cedida pela Professora Doutora Esmeralda Delgado).



Figura nº14 - Cão com conjuntivite alérgica, alopecia periocular e corrimento ocular muito marcados (Gentilmente cedida pela Professora Doutora Esmeralda Delgado).



### 1.2.7 - Diagnóstico

O diagnóstico desta doença é essencialmente clínico (Friedlaender, 2011). No entanto, existem vários testes que se podem executar para nos ajudar a chegar a um diagnóstico, com o objetivo de provar a existência de uma reação alérgica do tipo I na conjuntiva ou sistemicamente (Takamura *et al.*, 2011). Sintomas como o prurido ocular juntamente com hiperémia são uma base importante para o diagnóstico. A presença ou ausência de história familiar de doenças alérgicas podem e devem ser tidas em conta (Bielory, 2011).

Tem sido referido que muitos dos pacientes humanos que têm sensibilidade para aeroalergénios apresentam níveis elevados de IgE tanto no sangue como na lágrima (Bielory, 2000).

Para se determinar se a inflamação é de origem alérgica, causada por uma reação mediada por IgE, deve-se identificar qual das formas de alergia ocular está presente com base nas características da doença (Bielory, 2011).

Os testes intradérmicos são um método simples e rápido para avaliar a existência de uma sensibilização a alergénios ambientais, comum em pacientes com CA. Estes provam a existência de uma sensibilidade específica a alergénios ambientais reforçando o conceito da existência de uma doença alérgica; no entanto, a conjuntiva é conhecida por ser capaz de se encontrar unicamente sensibilizada a um alergénio (Bielory, 2011).

Os testes intradérmicos podem revelar se o paciente é ou não alérgico a uma variedade de alergénios, sendo importante salientar que estes nem sempre estão relacionados com o resultado dos testes no local específico da reação alérgica, ou seja, a medição de IgE na lágrima será um teste mais específico, podendo os testes não revelar o alergénio que está a



provocar a CA. Ainda temos a possibilidade de pacientes com sintomas de CA e testes intradérmicos positivos terem um resultado negativo nos testes de provocação conjuntival. Assim, uma boa combinação de exames será o mais importante no diagnóstico desta doença (Torkildsen, Workman & Plumer, 2005).

Pode realizar-se uma citologia conjuntival que no caso de serem visualizados eosinófilos, mastócitos ou basófilos, é bastante consistente com um diagnóstico de CA (Friedlaender, 2011).

Em síntese, idealmente, a CA devia ser diagnosticada segundo estes critérios: história de doenças alérgicas oculares; presença de sintomas oculares como o prurido; formações papilomatosas na conjuntiva (este critério só se aplica ao Homem) e presença de IgE específica detectada por provas cutâneas ou serológicas. Podem existir pacientes em que os níveis de IgE são normais, as razões para tal podem ser: envolvimento de outro Ag na reação alérgica, IgG ou outros fatores estarem envolvidos na reação, o nível de IgE estar abaixo do limiar de detecção do teste usado ou existir uma falha no diagnóstico de outra doença que possa afetar a superfície ocular como a doença do “olho seco” (Fujishima *et al.*, 1996).

O teste de provocação conjuntival é um teste em que se recorre à instalação de um alérgénio na superfície conjuntival e se avalia a resposta ocular face ao estímulo alérgico. Com este teste pode-se fazer uma ligação entre a exposição a um alérgénio e o aparecimento de uma reação alérgica, sendo identificada a sensibilização do paciente. Este teste é considerado específico e é provavelmente a maneira mais simples para confirmar ou descartar a contribuição de um alérgénio específico na CA. Também pode ser utilizado para avaliar a eficácia de certas terapêuticas (Abelson, Chambers & Smith, 1990).

A Síndrome do “olho seco” ou disfunção do filme lacrimal está comumente presente em simultâneo com doenças alérgicas, como seja a CA (Bielory, 2011).

Quando elaboramos uma lista de diagnósticos diferenciais de conjuntivite também devemos ter em conta doenças sistémicas concomitantes, porque a CA é uma manifestação local de uma doença alérgica sistémica. Assim, é muito importante uma abordagem multidisciplinar a um paciente que sofra de CA (Bielory, 2011).

Por vezes, formas pseudoalérgicas, com manifestações clínicas semelhantes a alergias mas com uma patogénese não alérgica, são difíceis de distinguir. Formas de doenças mais graves podem mascarar a existência de CA incluindo uma disfunção do filme lacrimal, infeções subagudas ou crónicas e outras formas de conjuntivite (Bielory, 2011).

### 1.2.8 - Tratamento

A primeira preocupação nas alergias oculares é a identificação da causa e prevenir o reaparecimento dos sintomas, eliminando-os. No entanto, se isto parece fácil em teoria, é bastante difícil ou mesmo impossível de conseguir na prática. Os tratamentos existentes no mercado para esta doença têm como alvo os mecanismos chave que estão envolvidos no desenvolvimento do quadro clínico: os mastócitos com estabilizadores dos mastócitos, histamina com antagonistas dos receptores da histamina, inflamação com corticoesteróides e inflamações mais graves com imunomoduladores (Leonardi *et al.*, 2008). O tratamento desta doença passa também por métodos não farmacológicos, como tentar evitar o contato com os alérgenos, o uso preventivo de lubrificantes oculares e a aplicação de compressas húmidas. No entanto, estas técnicas devem ser usadas em complemento do tratamento farmacológico, pois estes em exclusividade não atuam em crises agudas de CA (Bielory, 2011; Bonine *et al.*, 2009).

Como tratamento farmacológico vários agentes podem ser utilizados. O uso de vasoconstritores, ou agonistas  $\alpha$ -adrenérgicos controla a hiperémia, no entanto eles não são específicos nem farmacologicamente ativos na cascata de eventos numa reação alérgica, podendo ainda ter efeitos secundários graves (Bonine *et al.*, 2009). Os anti-histamínicos ou antagonistas do receptor da histamina H<sub>1</sub>, que compete com a histamina pelos seus receptores, reduz a vasodilatação e alivia instantaneamente o prurido, no entanto não alivia a hiperémia, têm uma duração longa (4-6 horas) e são bem tolerados. Os estabilizadores dos mastócitos, inibindo a sua desgranulação e prevenindo a libertação de mediadores inflamatórios, previnem o prurido mas devem ser aplicados como preventivo de uma crise. Os anti-inflamatórios não esteróides inibem as ciclooxygenases para aliviar a inflamação. Os corticosteróides devem ser usados por curtos períodos de tempo pelos seus efeitos secundários (aumento da pressão intraocular - PIO, cataratas, infeções virais), são muito potentes pois vão interferir com a síntese de proteínas intracelulares, bloquear a fosfolipase A<sub>2</sub> (enzima responsável pela formação do AA), inibir a produção de citocinas e a migração de células inflamatórias (Sanchez *et al.*, 2011). A imunoterapia específica tem mostrado uma boa eficácia no tratamento de CA, aliviando os seus sintomas e diminuindo o uso de outras medicações (Bielory, 2011; Bonine *et al.*, 2009). Por último, os imunomoduladores, como a ciclosporina A e o tacrolimus, vão bloquear a proliferação de células e a libertação de histamina pelos mastócitos pela inibição da calcineurina (um fosfato) que participa na pré-formação de mediadores pelos mastócitos, ou seja, vão bloquear a libertação de citocinas mediadas pelo Factor de ativação nuclear de células T (NFAT - *Nuclear factor of activated T-*

*cells*, controlado pela calcineurina) pelos linfócitos T e pelos mastócitos, reduzir a infiltração eosinofílica e diminuir a adesão celular até ao local da inflamação (Bonine *et al.*, 2009).

### **1.3 - Osmolaridade do Filme Lacrimal**

#### **1.3.1 – Introdução**

Este parâmetro de avaliação da qualidade da lágrima está muito pouco estudado em animais. Apenas temos conhecimento de dois artigos referentes a animais, mas que não se focam na CA. Sendo que esta afeção é muito semelhante nos cães e no homem, a nossa bibliografia inclui um maior número de artigos referentes ao Homem.

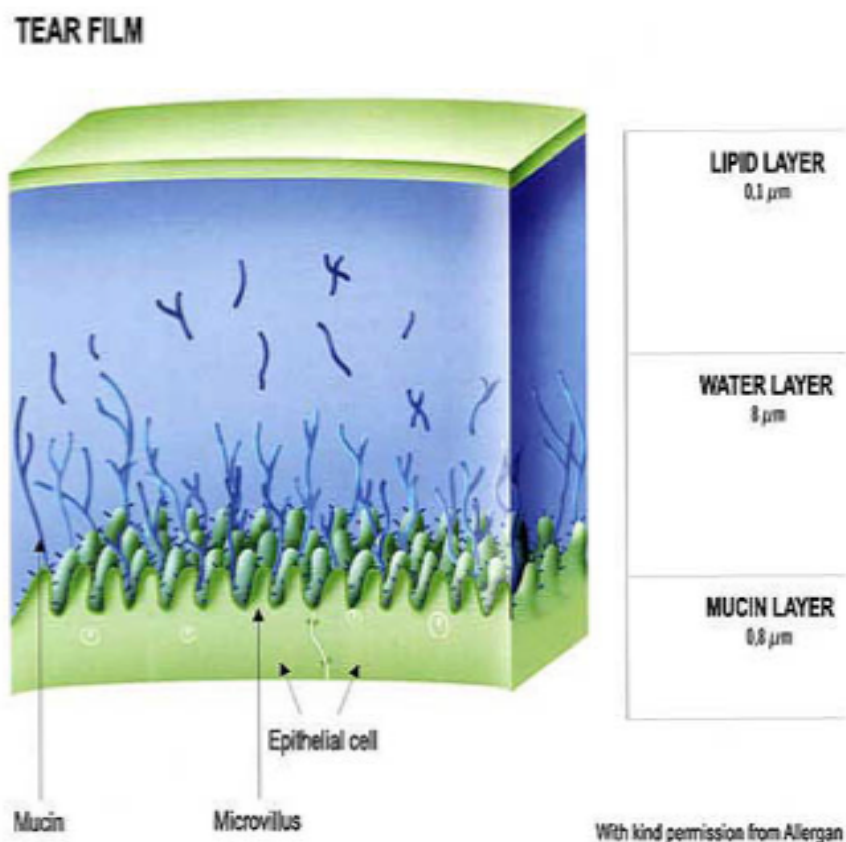
A função da lágrima é proteger e nutrir a córnea, eliminar resíduos e lubrificar as pálpebras. O filme lacrimal é essencial para a manutenção de uma visão normal e de uma superfície ocular saudável. Este tem três camadas (Figura 15), uma lipídica, uma aquosa e uma mucosa (Colitz, 2008).

A camada lipídica é a mais externa, é produzida pelas glândulas de Meibomius e a sua função principal é impedir a evaporação excessivamente rápida da camada aquosa promovendo assim a sua estabilidade (Aguilar, 2008).

Na zona intermédia encontra-se a camada aquosa produzida pela glândulas lacrimais e pela membrana nictitante. A sua função é remover material estranho que se encontre no saco conjuntival, lubrificar o deslizamento das pálpebras sobre a córnea, proporcionar o meio ideal para que existam trocas de oxigénio, células inflamatórias, imunoglobulinas, lisozima e lactoferrina para a córnea e manter a superfície da córnea lisa para uma boa eficiência ótica e lubrificar e nutrir a córnea (Colitz, 2008).

A camada mucínica é a mais interna, sendo produzida pelas células caliciformes e pelas células epiteliais da córnea e da conjuntiva. Atua como surfatante e estabilizador da camada aquosa, espalhando lágrimas pela córnea, inibe a adesão bacteriana e facilita o movimento das pálpebras e do globo ocular. A mucina também filtra partículas estranhas, formando filamentos de muco que se deslocam para o canto medial do olho, limpando-o. (Colitz, 2008).

Figure 15 - Esquema ilustrativo das 3 camadas que compõem o filme lacrimal (Permissão da Allergan).



Um volume lacrimal correto e um bom filme lacrimal são essenciais para a manutenção de uma superfície ocular saudável (Kosina-Hagyó, 2011).

A osmolaridade do filme lacrimal representa a concentração de cátions (sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro e cobre) e de aniões (cloretos, bicarbonatos e fosfatos) dissolvidos na porção aquosa da lágrima (Davis & Townsend, 2011).

A unidade funcional lacrimal é um sistema integrado que consiste nas glândulas lacrimais, superfície ocular (córnea, conjuntiva e glândula de Meibomius), nas pálpebras e nos nervos sensitivos e motores. Esta unidade controla a maioria dos componentes do filme lacrimal, respondendo a alterações ambientais e endócrinas (como o cortisol). A sua principal função é preservar a integridade do filme lacrimal, manter a transparência da córnea e manter a qualidade da imagem projetada na retina (Lemp *et al.*, 2007).

A estabilidade do filme lacrimal, essencial para o funcionamento normal do olho, está comprometida quando as interações entre os seus constituintes estão alteradas pelo decréscimo de secreção lacrimal, alteração da eliminação lacrimal e por alteração da composição da lágrima (Lemp *et al.*, 2007).



A instabilidade do filme lacrimal pode resultar numa hiperosmolaridade focal ou difusa. Esta hiperosmolaridade pode induzir as células epiteliais da superfície ocular a expressar e produzir citocinas inflamatórias tais como interleucina 1 $\alpha$ , interleucina 1 $\beta$  e o factor de necrose tumoral  $\alpha$ . Isto resulta na ativação de células inflamatórias oculares induzindo a apoptose de células epiteliais da córnea e da conjuntiva, incluindo as células caliciformes. As células danificadas estimulam o arco reflexo neurosensorial que estimula a libertação de citocinas inflamatórias, causando inflamação da córnea e da conjuntiva (Davis & Townsend, 2011).

As células caliciformes presentes na conjuntiva secretam MUC5AC (*gel-forming secretor mucin*), que mantém o equilíbrio dos fluidos devido à sua natureza hidrofílica, estabilizando assim o filme lacrimal. A perda destas células pode levar a uma instabilidade no mesmo (Davis & Townsend, 2011).

### **1.3.2 – Hiperosmolaridade lacrimal**

A hiperosmolaridade é tida como o mecanismo central da inflamação ocular, das lesões, dos sintomas e do desencadear dos mecanismos compensatórios na Doença do “olho seco” (Lemp *et al.*, 2007).

A hiperosmolaridade do filme lacrimal é reconhecida como componente crítico das doenças da superfície ocular, particularmente nas que diminuem a estabilidade do mesmo (Davis & Townsend, 2011). Segundo estes autores, a osmolaridade é influenciada tanto pela taxa de secreção lacrimal como pela evaporação da lágrima.

O fluido lacrimal é secretado como um fluido hipotónico, sendo esperado que a osmolaridade da lágrima seja maior no filme lacrimal do que nos outros compartimentos lacrimais (Lemp *et al.*, 2007).

A hiperosmolaridade estimula uma cascata de eventos inflamatórios na células da superfície epitelial, que ativam as células inflamatórias do globo ocular. Existem evidências que estes eventos provocam apoptose dessas mesmas células incluindo as células caliciformes. Esta perda de células caliciformes está diretamente relacionada com os efeitos duma inflamação crónica (Lemp *et al.*, 2007).

### **1.3.3 – A osmolaridade lacrimal na conjuntivite alérgica**

A CA e o “olho seco” são as afeções da superfície ocular de maior importância, afetando milhões de pessoas no mundo (Fujishima *et al.*, 1996).

A diferenciação entre CA e “olho seco” pode ser um desafio para o clínico (Torkildsen, Workman & Plumer, 2005)

No artigo de Toda e seus colaboradores é referido que 12 de 80 pacientes diagnosticados com “olho seco” se queixavam de uma sensação de prurido, e aqueles pacientes que tinham o *Tear Break Up Time* diminuído apresentavam formações papilares na conjuntiva tarsal e um aumento sanguíneo dos níveis de IgE (Toda *et al.*, 1995). Segundo estes autores existia uma correlação entre as duas doenças, CA e “olho seco”. Perante esta situação, Fujishima e a sua equipa iniciaram um estudo que colocava a hipótese de alguns casos diagnosticados como CA serem casos de “olho seco”, especialmente aqueles em que os níveis sanguíneos de IgE fossem considerados normais. A conclusão a que chegaram foi que, de fato, os pacientes que não apresentassem níveis altos de IgE tinham uma produção lacrimal baixa. Como a CA e o “olho seco” têm sintomas muito similares, os resultados deste estudo sugerem outra possibilidade: que uma reação alérgica ocorre na conjuntiva quando um Ag fica mais tempo que o usual no saco conjuntival, mesmo que o Ag seja fraco demais para provocar a reação alérgica. Uma quantidade insuficiente de Ag pode não causar CA, devido a uma falha na produção de lágrima pode existir acumulação do mesmo Ag até que ele esteja presente em quantidade suficiente para provocar uma reação (Fujishima *et al.*, 1996). A osmolaridade da lágrima tem sido descrita como o melhor marcador para a doença do “olho seco” (Lemp *et al.*, 2011). No presente estudo, pretendemos averiguar se esta se encontra também alterada também na CA.

#### **1.3.3.1 – “Olho seco” e conjuntivite alérgica**

Para uma melhor compreensão deste tema abordaremos sumariamente a doença do “olho seco”.

A doença do olho seco é uma afeção multifatorial da produção lacrimal e da superfície ocular que resulta em sintomas de desconforto, alterações da visão e instabilidade do filme lacrimal com potencial lesão da superfície ocular. É acompanhada por hiperosmolaridade lacrimal e inflamação da superfície ocular, ou seja, uma disfunção da unidade funcional lacrimal (Lemp *et al.*, 2007). Apesar de ser normalmente esta ser bilateral, a progressão da doença pode ser

diferente no mesmo indivíduo, fazendo que os olhos possam ter diferentes estádios da doença (Lemp *et al.*, 2007).

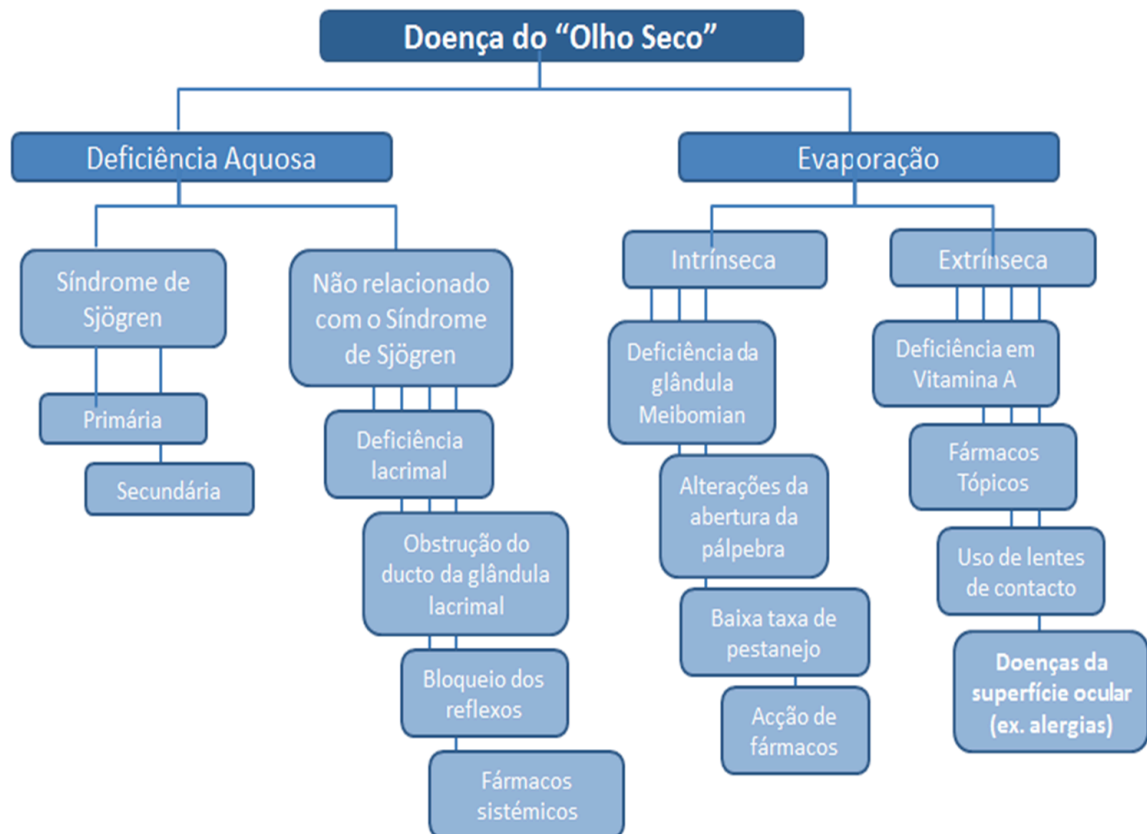
Como alteração secundária desta afeção, surge a inflamação da superfície ocular. O reflexo de secreção lacrimal em resposta a uma irritação ocular é encarado como um mecanismo compensatório. Com o tempo, a inflamação acompanhada de uma disfunção secretória crónica e do decréscimo da sensibilidade da córnea pode comprometer o reflexo de resposta e aumentar a instabilidade do filme lacrimal (Lemp *et al.*, 2007).

Nos estádios iniciais de “olho seco” é considerado que os danos na superfície ocular causados por stress osmótico, inflamatório ou mecânico, ou seja, perda da lubrificação da superfície, resultam num reflexo de estimulação da glândula lacrimal. A atividade do reflexo trigeminal é responsável por um aumento do número de vezes que se pestaneja, um mecanismo compensatório que aumenta a secreção lacrimal. No caso de insuficiência da glândula lacrimal este mecanismo será insuficiente para compensar totalmente a hiperosmolaridade do filme lacrimal (Lemp *et al.*, 2007).

Os fatores considerados de risco para o aparecimento de “olho seco” são: a idade, deficiência em androgénios, stress ambiental crónico, alterações no pestanejar, doenças autoimunes sistémicas, fármacos, cirurgia ocular e medicação tópica (Lemp *et al.*, 2011).

Um dos fatores de risco para o aparecimento da doença do “olho seco” é a alergia ocular (Figura nº16). A inflamação alérgica na superfície ocular causa instabilidade do filme lacrimal. Nos pacientes alérgicos, desenvolvem-se várias alterações tanto morfológicas como funcionais na conjuntiva (Kosina-Hagyó, 2011).

Figure 16 - Causas mais importantes de doença do "olho seco" (Adaptado de Lemp *et al.*, 2007).



Como já foi mencionado, a CA é uma doença em que há exposição a um alérgénio (Ag) que leva a uma desgranulação dos mastócitos, dando-se assim a libertação de citocinas. A resposta Th2 é ativada na superfície ocular, inicialmente na conjuntiva e mais tarde no epitélio da córnea o que leva a alterações da submucosa. Existe assim uma estimulação da secreção das células caliciformes, a morte das células epiteliais superficiais ocorre e afeta o epitélio conjuntival e da córnea. Os danos causados e a libertação de mediadores inflamatórios levam à existência de sintomas alérgicos e ao reflexo de estimulação da glândula lacrimal normal. Irregularidades na superfície da córnea e da conjuntiva podem levar à instabilidade do filme lacrimal. Em caso de cronicidade da doença pode existir uma disfunção das glândulas de Meibomius a qual pode exacerbar a falta de lágrima ao interferir com a camada lipídica do filme lacrimal. Naturalmente, no caso de doenças alérgicas, o uso concomitante de medicação sistémica, como anti-histamínicos e corticoesteróides, também é considerado como um fator de risco (Lemp *et al.*, 2007).

A variedade de afeções inflamatórias que afetam a parte anterior do olho podem mascarar a CA. No entanto, é comumente esquecido o desenvolvimento da Doença do “olho seco” nesta afeção, também bastante confundida com a CA (Bielory, 2011).

No caso de doenças alérgicas do olho a instabilidade do filme lacrimal é devida às alterações na camada mucínica da superfície ocular, ou seja, no caso da CA, quando se dá a reação de hipersensibilidade tipo I, mediada por IgE, que leva a que haja uma libertação de mediadores inflamatórios como resposta ao alérgeno (Lemp *et al.*, 2007).

#### **1.4 - Objetivos**

Numa primeira fase, pretende-se avaliar a osmolaridade da lágrima de cães saudáveis para obtenção de valores de referência para a amostra de cães em estudo da região de Lisboa.

Numa segunda fase, pretende-se avaliar a osmolaridade da lágrima de cães atópicos com CA, com o objetivo de comparar os valores obtidos com os valores da amostra de referência, para verificar se existem diferenças significativas em relação aos animais saudáveis.

Com este estudo pretende-se ajudar a caracterizar a lágrima dos pacientes caninos afetados com CA, o que poderá ser útil numa perspetiva de confirmação do diagnóstico, monitorização da evolução da doença e novas abordagens terapêuticas.

Pretende-se ainda que os nossos resultados possam servir de termo de comparação relativamente aquilo que se passa na CA em humanos.

A hipótese experimental apresentada é: “Se no Homem a CA é tida como uma causa de hiperosmolaridade lacrimal, será que o mesmo acontece no cão?”

## 2 - Materiais e Métodos

O protocolo experimental desta tese foi baseado no artigo de Lourenço-Martins *et al.* (2011), com o título “Allergic conjunctivitis and conjunctival provocation tests in atopic dogs”.

### 2.1 - Amostra em estudo

**Fase 1:** Os canídeos incluídos neste grupo de estudo foram oriundos do Canil da Faculdade de Medicina Veterinária-UTL e não apresentavam qualquer sintomatologia de doença, nem alterações no exame físico, exame dermatológico e oftalmológico. Se a ausência de doença se confirmasse, eram incluídos no estudo. Este ficou o grupo controlo com 20 animais.

**Fase 2:** Para inclusão neste grupo, os pacientes foram observados no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária-UTL, durante as consultas de referência de Dermatologia, realizadas no período de estágio, e foram diagnosticados como tendo DAC. Após observação na consulta de referência de Oftalmologia, foram diagnosticados como sendo tendo também CA.

Foi solicitado aos donos autorização por escrito para que os animais pudessem ser incluídos no estudo.

Este grupo ficou com 20 animais e denominou-se “Grupo Atópico”, pois incluiu animais atópicos com sinais de CA.

### 2.2 - Critérios de inclusão e exclusão dos animais

Os fatores supracitados constam dos quadros seguintes:

#### Fase 1

Tabela nº1 - Fatores de inclusão e exclusão na Fase 1 deste estudo.

<b>Critérios de inclusão</b>
Sem história de doença dermatológica;
Sem história de doença oftálmica;
Animais considerados saudáveis ao exame de estado geral.

Autorização do dono, por escrito;
<b>Critérios de exclusão</b>
Existência de doença oftálmica;
Existência de doença dermatológica;
Existência de medicação em curso para qualquer tipo de doença;

## Fase 2

Tabela nº2 - Critérios de inclusão e exclusão para a Fase 2 deste estudo.

<b>Critérios de inclusão</b>
Diagnóstico de DAc;
Diagnóstico de CA;
Autorização do dono, por escrito;
<b>Critérios de exclusão</b>
Tratamento com anti-histamínicos nos últimos 14 dias;
Tratamento com glucocorticóides orais ou tópicos nas últimas 3 semanas;
Tratamento com ciclosporina A nas últimas 3 semanas;
Administração parenteral de glucocorticóides nas últimas 8 semanas;
Existência de desequilíbrios eletrolíticos;
Existência de gravidez ou fim de estro há menos de 3 semanas;
Término de imunoterapia nos últimos 6 meses ou início da mesma;
Doenças oculares concomitantes;
Cirurgias oculares prévias;

Todos os donos dos pacientes assinaram um termo de autorização para entrada neste estudo (Anexo II)

É também importante referir que todas as medições foram efetuadas sob as mesmas condições ambientais e segundo os mesmos padrões rigorosos.

### 2.3 - Avaliação Dermatológica

Foi realizado o diagnóstico de DAc, sendo previamente excluído hipersensibilidade alimentar com a administração de ração hipoalérgica durante 6 semanas, em exclusivo, ao animal.

Procedeu-se também à exclusão de ectoparasitas, com a administração de pipetas de aplicação tópica de Selamectina de 15 em 15 dias, no total de 3 aplicações.

Foram ainda realizadas citologias de pele, assim como tricogramas e raspagens cutâneas para a exclusão de infecção cutânea e de Demodicose. Procedeu-se assim à exclusão de todas as doenças pruriginosas.

Para classificação da gravidade das lesões foi utilizada a escala *Canine Atopic Dermatitis Extend and Severity Index-third version 3* (CADESI-03). Com esta escala foram analisadas 62 áreas corporais pré-definidas quanto à existência de eritema, liquenificação, escoriações e alopecia auto-induzida e classificadas de acordo com uma escala de 0-5, sendo que 0 é a ausência de qualquer lesão, avaliando-se assim a gravidade da doença (Anexo III).

Optou-se pela classificação para a gravidade da DAc recomendada pelo ITFCAD, de acordo com os seguintes valores de CADESI-03: 0-15, DAc em remissão; 16-57, DAc ligeira; 60-119, DAc moderada,  $\geq 120$  DAc grave (Olivry *et al.*, 2008)

É de salientar que todos os pacientes foram observados pelo mesmo clínico e de forma sistemática.

## **2.4 - Avaliação Oftalmológica**

Neste serviço foi realizado um exame oftálmico completo, a todos os animais, pelo mesmo clínico. Para cada paciente foi preenchida uma ficha de exame oftálmico para registo e posterior análise dos resultados obtidos (Anexo IV).

Tal exame incluiu:

- a) Observação externa com uma fonte focal de iluminação do olho, pálpebras e estruturas peribulbares;
- b) Avaliação de resposta à ameaça, bem como dos reflexos palpebral, pupilar direto e consensual, encadeamento e reflexos oculocefálicos;
- c) Avaliação da osmolaridade da lágrima (TearLab Corp., San Diego, E.U.A.), antes da instilação de qualquer colírio, e de qualquer manipulação do globo ocular e seus anexos. As figuras 17, 18 e 19 ilustram a máquina e os kits usados neste estudo e a figura 20 ilustra a técnica usada, sendo este aparelho um meio de diagnóstico *in vitro*;
- d) Realização do teste de Schirmer (STT, Dina Strips Shimer-Plus, Luneau SAS, Chartes, França) de modo a avaliar a produção lacrimal. O intervalo considerado normal foi de 15-25 mm/min (Gelatt & MacKay, 1998);



- e) Medição do “*Tear Break- Up Time*” após a instilação de uma gota de fluoresceína sódica (Haag-Streit International, Köniz, Suíça) sobre a córnea, e observação do tempo decorrido até ruptura da película lacrimal. Considerou-se normal um tempo inferior a 20 segundos (Moore, 1999);
- f) Avaliação da PIO pelo método de tonometria de aplanção de Goldmann (Tono-Pen XL, Medtronic Solan, USA) após a colocação de uma gota de anestésico tópico (0,4% cloridrato de oxibuprocaina, Anestocil®, Oftalder, Oeiras, Portugal). Foram consideradas normais PIO entre 15 e 25 mmHg (Gelatt & MacKay, 1998). As medições foram realizadas 3 vezes consecutivas. Os valores foram considerados válidos e a média calculada, se o coeficiente de variação fosse menor ou igual a 5%;
- g) Realização de exame de biomicroscopia com lâmpada de fenda (Kowa SL15, Tóquio, Japão), efetuado numa sala escura, para avaliação subjetiva dos sinais oculares (hiperémia, quemose, epífora, corrimento ocular, queratite concomitante), numa escala de 0-3, correspondendo respectivamente a sinais ausentes, ligeiros, moderados ou graves;
- h) Dilatação da íris com tropicamida (Tropicamida a 1%, Tropocil Top®, Edol, Linda-a-Velha, Portugal) e posterior exame com o oftalmoscópio indireto (Heine ómega 500, Herrsching, Alemanha), em sala escura, para realização de fundoscopia;
- i) Realização de outros meios de diagnóstico complementar, como a citologia conjuntival, sempre que considerado necessário para a exclusão de causas de sintomatologia ocular que não as alérgicas;

Figure 17 - Aparelho usado para a medição da osmolaridade lacrimal, TearLab Osmolarity System® (Gentilmente cedida pela Professora Doutora Esmeralda Delgado).



Figure 18 - Parte móvel do aparelho denominada "caneta" que leva o kit na ponta e contata com o olho do animal (Gentilmente cedida pela Professora Doutora Esmeralda Delgado).



Figure 19 - Kits descartáveis utilizados no aparelho para medição da osmolaridade lacrimal (Gentilmente cedida pela Professora Doutora Esmeralda Delgado).



Figure 20 - Avaliação da osmolaridade lacrimal num cão com conjuntivite alérgica (Original da autora).



Legenda: Colheita de uma pequena quantidade de lágrima (50nL), por capilaridade. Basta encostar a extremidade do kit descartável à conjuntiva no canto inferior da pálpebra até se ouvir um sinal sonoro, que indica que já se colheu lágrima suficiente. Após a colheita, a “caneta” é inserida no aparelho principal (figura nº18) e aparece o resultado no visor em

miliosmoles por litro (mOsm/L). Não é necessária nenhuma calibração adicional para o sistema, no entanto a TearLab® disponibiliza um teste electrónico que tem uma solução salina no interior e produz um valor de 304-306 mOsm/L, devendo este ser testado diariamente, se o valor estiver dentro dos resultados considerados normais a máquina está a funcionar normalmente. A fábrica aponta para o instrumento um CV=1,5% o que resulta numa variação analítica de  $\pm 5$  mOsm/L.

Concluído o exame oftálmico, os sinais que se encontram mencionados na alínea g), de CA, foram classificados de 0 a 3, consoante a sua gravidade, correspondendo respectivamente a sinais ausentes, ligeiros, moderados ou graves, sendo que 0 foi usado para demonstrar a ausência de lesão.

Para além do acima exposto, foi considerado um outro critério, o prurido ocular, avaliado pelos donos, numa escala de 0-3, em que o 0 corresponde á ausência de prurido ocular. Para uma melhor avaliação e, pela falta de experiência dos donos, foram-lhes explicadas as manifestações de prurido ocular que podem existir, para além dos animais se coçarem directamente na região periocular, tais como a intenção de esfregar a zona ocular ou facial na região periocular tanto em objectos como nas pernas das pessoas, incluindo esta tentativa incluindo frequentemente a região auricular.

A classificação final resultou da soma das classificações individuais dos sinais oculares, podendo variar entre 0 e 18 (6x3).

O diagnóstico de CA realizou-se de acordo com a anamnese, sinais clínicos e exclusão de outras causas possíveis para as manifestações oculares.

## **2.5 – Análise estatística**

A análise estatística do estudo foi realizada com base nos dados recolhidos de todos os pacientes. Baseamo-nos nos seus graus de CADESI, score de CA e osmolaridade lacrimal de ambos os olhos.

Os dados obtidos foram assim tratados com o programa GraphPad Instat®.

Para a avaliação dos grupos em estudo procedeu-se à aplicação de estatística descritiva, seleccionando-se a média (M) como a principal medida de tendência central e o desvio padrão (s) como medida de dispersão. Procedeu-se à aplicação de estatística inferencial preconizando-se o teste t para amostras independentes. Contudo, quando o pressuposto de normalidade, verificado pelo teste de Shapiro-Wilk, não se verificou procedeu-se com a

alternativa não paramétrica: o teste de Mann-Whitney. Foi também usado o teste de regressão linear para correlação dos dados. Adicionalmente à mediana, usualmente usada neste tipo de teste, procedeu-se à análise dos dados, usando também a média e o desvio padrão.

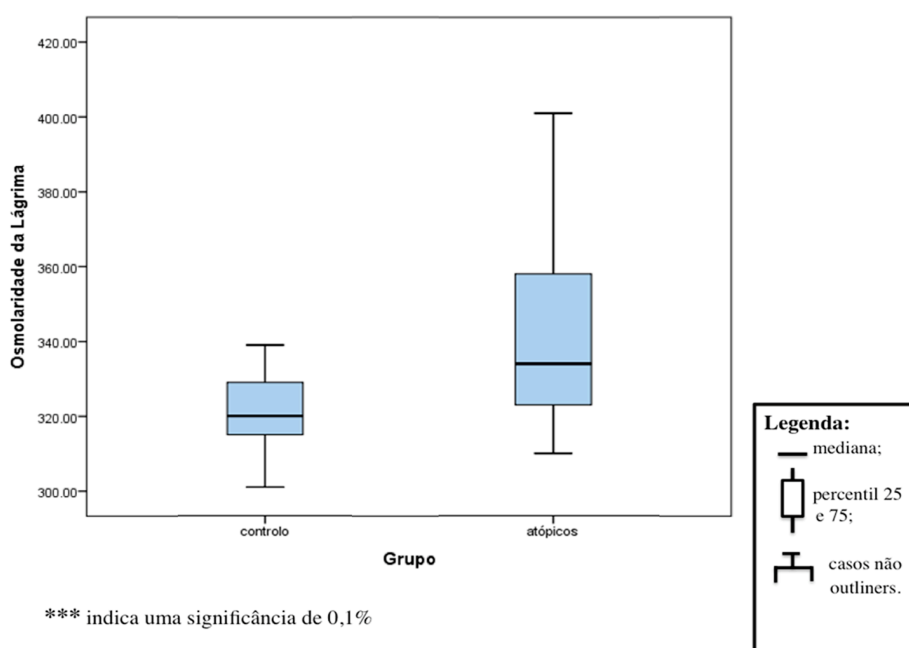
Foram analisadas as seguintes variáveis: a osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo e no grupo de animais atópicos, a osmolaridade da lágrima do olho direito e do olho esquerdo no grupo controlo e no grupo experiência (atópicos), o valor de CADESI dos pacientes atópicos e o score de CA, bem como a existência de correlação entre a osmolaridade da lágrima dos cães atópicos e os seus CADESI e entre a osmolaridade da lágrima dos cães atópicos e o seu score de CA.

### 3 – Resultados

#### 3.1 – Osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo e no grupo de animais atópicos

Foram analisadas as osmolaridades dos dois grupos (gráfico nº1), controlo e atópicos com sinais de CA. O grupo controlo apresentou um valor de osmolaridade médio de  $320,8 \pm 9,6$  mOsm/L ( $IC_{95\%}=317,7-323,89$  mOSms/L), tendo como mínimo 301 mOsm/L e como máximo 339 mOsm/L, enquanto o grupo experiência apresentou um valor de osmolaridade média de  $340,3 \pm 21,6$  mOsm/L ( $IC_{95\%}=333,49-347,29$  mOSms/L). Foram encontradas diferenças estatísticas extremamente significativas entre os grupos ( $P=0,1\%$ ; teste Mann-Whitney).

Gráfico nº1 - Osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo e no grupo atópico. Comparação entre a osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo, que exibe uma mediana de 320 mOsm/L, e o grupo atópico com 334 mOsm/L, exibindo assim uma diferença estatística extremamente significativa.



	Grupo Controlo	Grupo Atópico
Mediana	320 mOsm/L	334 mOsm/L
Percentil 25	315 mOsm/L	323 mOsm/L
Percentil 75	329 mOsm/L	356,5 mOsm/L
Máximo	339 mOsm/L	401 mOsm/L
Mínimo	301 mOsm/L	310 mOsm/L

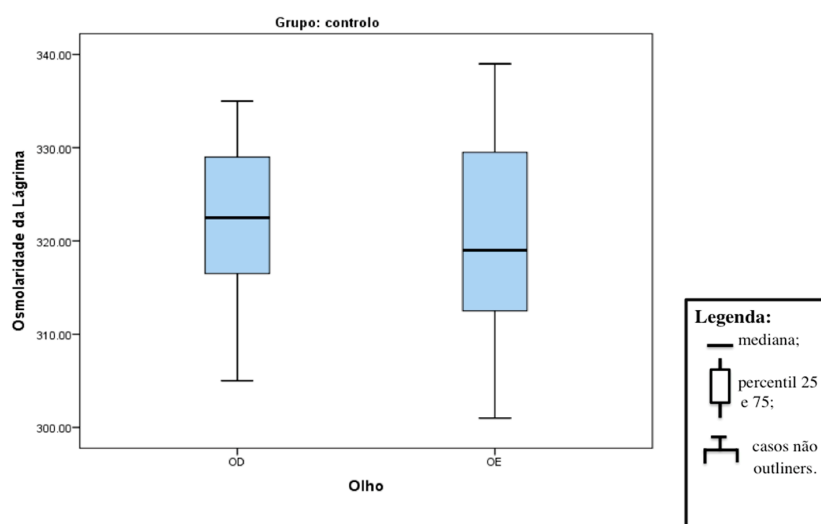
### 3.2 – Osmolaridade da lágrima do olho direito e do olho esquerdo no grupo controlo e no grupo experiência (atópicos)

Analisámos se existiriam diferenças estatisticamente significativas entre o olho direito e o olho esquerdo tanto no grupo controlo (Gráfico nº2) como no grupo dos atópicos (Gráfico nº3).

No grupo controlo no olho direito o valor de osmolaridade médio foi de  $321,8 \pm 9,16$  mOsm/L enquanto no olho esquerdo o valor de osmolaridade médio foi de  $319,8 \pm 10,283$  mOsm/L. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre o olho direito e o olho esquerdo do grupo controlo ( $P=0,5244$ ; teste Mann-Whitney).

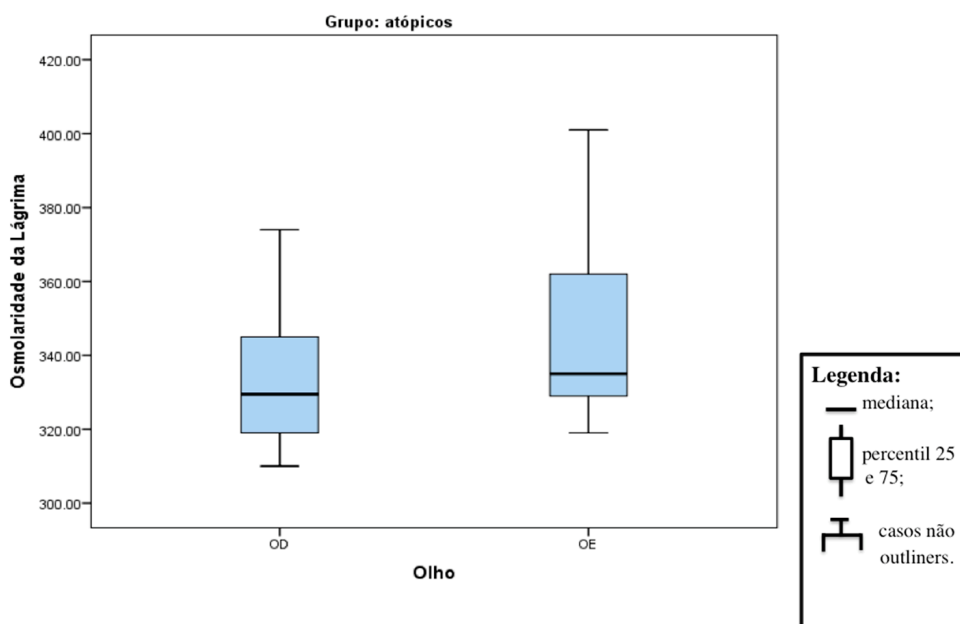
No grupo atópico no olho direito o valor de osmolaridade médio é de  $335,7 \pm 20,76$  mOsm/L enquanto no olho esquerdo o valor de osmolaridade médio foi de  $345,1 \pm 21,95$  mOsm/L. Não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre o olho direito e o olho esquerdo do grupo atópico ( $P=0,123$ ; teste Mann-Whitney).

Gráfico nº2 - Osmolaridade do filme lacrimal entre o olho esquerdo e o olho direito do grupo controlo. Não foram verificadas diferenças estatísticas com significado. O OD apresenta uma mediana de 322,5 mOsm/L enquanto o OE apresenta 319 mOsm/L.



	Olho Direito (OD)	Olho Esquerdo (OE)
Mediana	322,5 mOsm/L	319 mOsm/L
Percentil 25	316,75 mOsm/L	313,25 mOsm/L
Percentil 75	329 mOsm/L	328,75 mOsm/L
Máximo	335 mOsm/L	339 mOsm/L
Mínimo	305 mOsm/L	301 mOsm/L

Gráfico nº3 - Osmolaridade do filme lacrimal entre o olho esquerdo e o olho direito do grupo atópico. Não se verificaram diferenças estatísticas significativas. O OD apresenta uma mediana de 329,5 mOsm/L e o OE de 335 mOsm/L.



	Olho Direito (OD)	Olho Esquerdo (OE)
Mediana	329,5 mOsm/L	335 mOsm/L
Percentil 25	319,5 mOsm/L	329,5 mOsm/L
Percentil 75	343,5 mOsm/L	361,5 mOsm/L
Máximo	374 mOsm/L	401 mOsm/L
Mínimo	310 mOsm/L	319 mOsm/L

### 3.3 – Valor de CADESI-03 dos pacientes atópicos e o score de conjuntivite alérgica

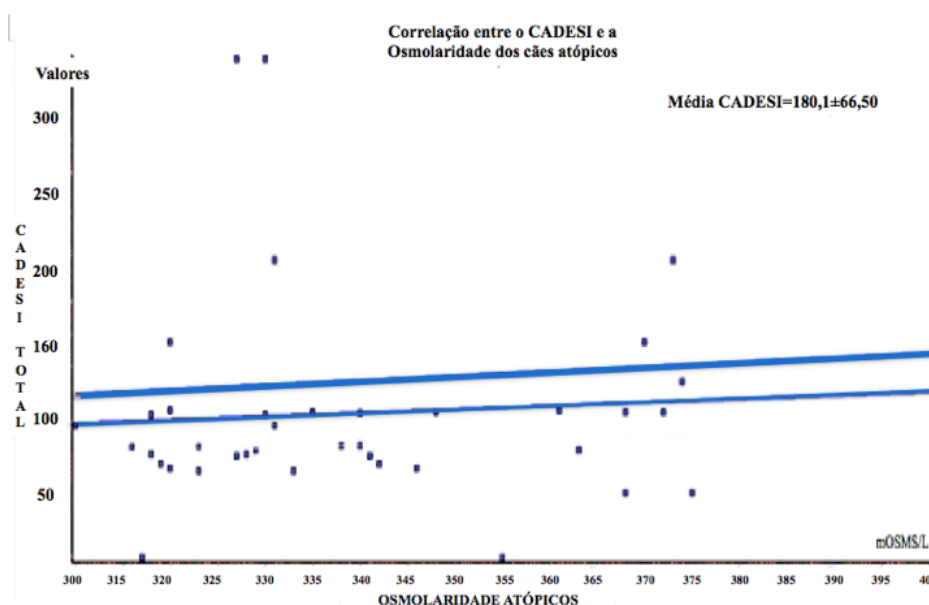
Os valores de CADESI-03 dos pacientes atópicos apresentam uma média de  $180,1 \pm 66,50$  valores. Quanto ao score da gravidade de CA, obtivemos um valor médio de  $8,2 \pm 2,36$  valores.

### 3.4 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu CADESI-03

Decidimos então analisar a correlação (Gráfico nº4) entre a osmolaridade do grupo atópico e o seu grau de CADESI-03, ou seja, a gravidade da DAc.

Obtivemos que a osmolaridade do filme lacrimal do grupo dos atópicos aumentava conforme a gravidade do grau de CADESI-03 e obtivemos uma correlação positiva estatística extremamente significativa ( $P=0,1\%$ ; teste de Mann-Whitney).

Gráfico nº4 - Correlação da osmolaridade do filme lacrimal com os CADESI-03 do grupo atópico. Foi exibida o uma diferença estatística extremamente significativa, em que na maioria dos casos o valor de CADESI-03 aumenta com o valor da osmolaridade.



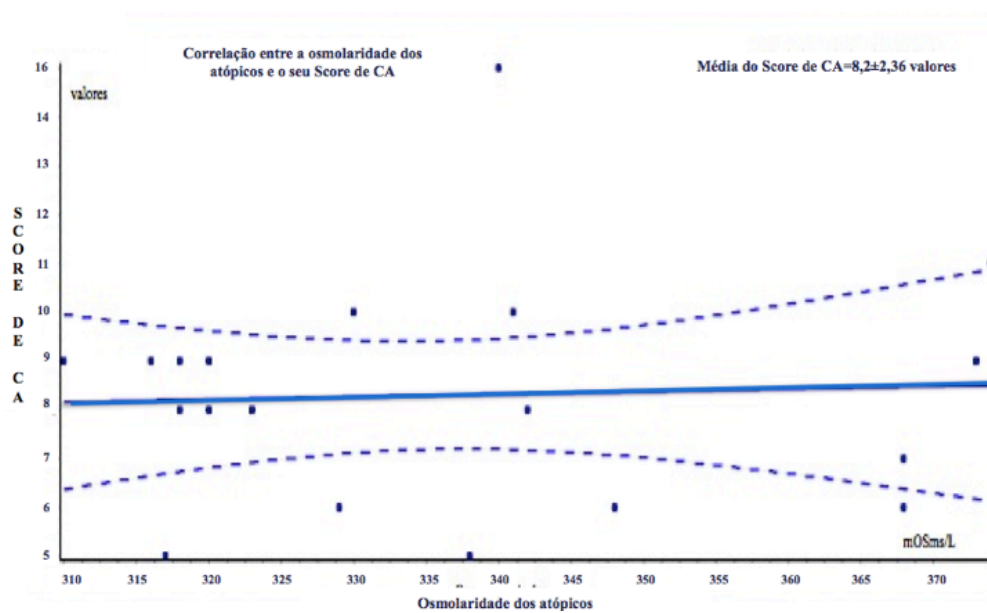
### 3.5 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu score de conjuntivite alérgica

Correlacionámos também a osmolaridade do filme lacrimal dos cães atópicos com o score de CA, analisando assim se a gravidade de CA teria alguma influência sobre a osmolaridade (Gráfico nº5).

Não se verificou correlação entre a osmolaridade do filme lacrimal do grupo dos atópicos com o seu score/gravidade de CA ( $P=0,8385$ ; regressão linear).



Gráfico nº5 - Correlação da osmolaridade do filme lacrimal com o Score de CA. Não foi verificada nenhuma correlação estatística significativa.



## **4 – Discussão**

Há semelhança do Homem, também os cães com DAc e sinais de CA, apresentam um aumento da osmolaridade da lágrima.

Este estudo foi realizado respeitando a boa prática clínica e os critérios de inclusão e exclusão foram rigorosamente seguidos, para que os resultados obtidos fossem os mais fidedignos possíveis. A raça, a idade, o sexo e o peso do animal não influenciaram a sua inclusão no estudo. A gravidade da doença, a distribuição das lesões e o tempo decorrido desde o diagnóstico não foram um critério de inclusão no estudo, de forma a garantir uma amostra representativa dos animais. Por tal, qualquer animal que se apresentasse á consulta com DAc e sinais de CA foi proposto aos donos a participação neste estudo.

No decorrer do estudo nenhum animal teve que ser retirado do mesmo.

### **4.1 – Osmolaridade do filme lacrimal no grupo controlo e no grupo de animais atópicos**

Em Medicina Veterinária são escassos os estudos que analisam a CA, e de nosso conhecimento nenhum a relaciona com a osmolaridade do filme lacrimal, dificultando assim a comparação dos nossos dados. Em Medicina Humana o mesmo se passa mas, existe bibliografia sobre a osmolaridade lacrimal, apesar de não relacionado com CA.

Foi encontrado um estudo realizado em 2011, em que foram analisados 37 gatos saudáveis e 39 com conjuntivite sem etiologia conhecida para a existência de alterações da osmolaridade do filme lacrimal. Os animais com conjuntivite apresentaram uma média de osmolaridade de  $325,0 \pm 24,84$  mOsm/L enquanto os saudáveis apresentaram uma média de 326,7 mOsm/L, não apresentando uma diferença estatisticamente relevante (Davis & Townsend, 2011) ao contrário do nosso estudo efectuado em cães.

Em 2010 foi apresentado um estudo em que avaliaram a osmolaridade do filme lacrimal, em 3 espécies animais e apenas em indivíduos saudáveis. Entraram no estudo 92 cães, 10 gatos e 73 cavalos. O intervalo que foi considerado normal nos cães foi de 303 – 400 mOsm/L (Korth, Romkes & Eule, 2010). Este resultado é um pouco superior ao referido neste estudo a propósito do grupo controlo, 301 – 339 mOsm/L. Esta discrepância pode dever-se ao número menor da amostra, às diferenças climáticas em que os animais se encontravam ou mesmo aos critérios de inclusão no estudo realizado em 2010, pois só foi publicado o abstract e apesar das tentativas, não conseguimos entrar em contato com os autores.

Todos os estudos efetuados acima foram realizados com o TearLab Osmolarity System®.

Salientamos no entanto a necessidade de ser apenas uma pessoa a executar as medições, pois por experiência própria as medições devem sempre ser realizadas na pálpebra inferior, mas do lado lateral do olho. Medialmente devido às secreções oculares a osmolaridade lacrimal apresentará um sempre resultado muito mais elevado.

Quando analisamos a osmolaridade do grupo controlo e do grupo atópico encontramos resultados estatísticos extremamente significativos. No entanto, a média do grupo atópico  $340,3 \pm 21,6$  mOsm/L encontra-se muito próxima do máximo do grupo controlo que é 339 mOsm/L e apresenta um desvio padrão bastante maior que este. Tais resultados podem dever-se a vários fatores.

Observando a amostra do grupo controlo ( $M=320,8 \pm 9,6$  mOsm/L) vemos que os animais apresentavam idades bastante diferentes, sendo que muitos deles já estavam com uma idade superior a 7 anos. Em Medicina Humana a idade é tida como um fator de hiperosmolaridade lacrimal (Fujishima *et al.*, 1996), como não existem dados sobre este assunto em Medicina Veterinária não sabemos se o mesmo acontece nos cães, podendo ser um estudo a realizar no futuro. Por agora fica a interrogação se no grupo controlo o máximo obtido foi mais elevado por tal razão.

Analisando os dados do grupo atópico ( $M=340,3 \pm 21,6$  mOsm/L) verificamos que o desvio padrão é muito elevado. Não existe bibliografia sobre o assunto referente a Medicina Veterinária mas quando investigamos a bibliografia de Medicina Humana encontramos fatos bastante interessante que podem justificar tais resultados.

A osmolaridade do filme lacrimal no Homem é afetada pela CA, mas nas formas crónicas da doença, ou seja, a existência de uma inflamação crónica e recorrente, estimulação constante das células caliciformes e a possível lesão das glândulas de Meibomius, juntamente com as irregularidades da superfície epitelial a nível da conjuntiva e da córnea contribuem todos em conjunto para uma instabilidade do filme lacrimal (Lemp *et al.*, 2007). O que este artigo nos sugere é que a osmolaridade aparenta estar alterada nas formas crónicas da doença, ou seja, após existirem danos recorrentes. Assim, quando analisamos a nossa amostra vemos que os animais não tinham todos o mesmo tempo decorrente de doença, tínhamos animais cuja afeção tinha sido diagnosticada há semanas e animais que estavam em tratamentos há anos, podendo isto justificar o grande desvio padrão no que toca à osmolaridade do filme lacrimal, ou seja, os animais que apresentavam a doença há mais tempo poderiam ter osmolaridades maiores que os que manifestaram sinais da doença recentemente. Seria sem dúvida um critério de inclusão a ponderar num estudo futuro.

#### **4.2 – Osmolaridade da lágrima do olho direito e do olho esquerdo no grupo controlo e no grupo experiência (atópicos)**

Quando investigamos a doença do “olho seco”, Lemp *et al.* (2010) refere-se a ela como uma afeção bilateral, no entanto o olho esquerdo e o olho direito não têm necessariamente que se encontrar no mesmo estágio da doença. Um dos olhos já pode apresentar alterações na osmolaridade lacrimal enquanto o outro ainda não as manifesta, o que não quer dizer que com o decorrer da doença este não as manifeste. Analisámos mais uma vez a nossa amostra e de fato existem vários animais em que um dos olhos, direito ou esquerdo apesar de não existirem diferenças estatisticamente significativas entre eles, se encontrava mais afetado que o outro ou mesmo um dos olhos apresentava hiperosmolaridade enquanto o outro apresentava valores normais, o que não quer dizer que com o tempo este não venha a apresentar valores alterados também.

No entanto, tendo a DAC as características sistémicas já mencionadas esta vai afectar o organismo como um todo e por tal razão não existem diferenças estatísticas entre os olhos dos animais no grupo dos atópicos. Quanto ao grupo controlo tendo em conta que eram animais saudáveis o resultado foi o esperado.

#### **4.3 – Valor de CADESI-03 dos pacientes atópicos e o score de conjuntivite alérgica**

Estes valores, que nos mostram a gravidade das doenças em curso, foram cuidadosamente avaliados para que fossem fiáveis.

É de salientar que a média da CADESI-03 no grupo atópico, de  $180,1 \pm 66,50$  valores apresenta um valor considerado pelo ITFCAD de grave ( $> 120$  valores).

Serão falados nos próximos pontos quando forem correlacionados com a osmolaridade do grupo atópico.

#### **4.4 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu CADESI-03**

Quando comparamos a osmolaridade do grupo atópico com o CADESI-03 dos mesmos estes apresentam uma correlação estatística extremamente significativa, ou seja, a gravidade da doença está relacionada com as alterações induzidas na lágrima. Assim, animais com valores de CADESI-03 superiores têm tendência para apresentar valores de osmolaridade superiores.

A DAc é uma doença sistêmica que se pode manifestar em várias zonas corporais (Olivry *et al.*, 2010). Citando Bielory (2010) a CA é uma manifestação local e uma condição alérgica sistêmica, podendo então apresentar doenças concomitantes.

É possível que nos cães certas áreas do corpo sejam predispostas para desenvolver inflamação após exposição a um alérgeno, uma vez que já tenha ocorrido sensibilização (Marsella *et al.*, 2006). Isto explica o fato de nem todos os animais com DAc apresentarem sinais de CA somente por esta ser uma doença sistêmica que se pode ou não manifestar a nível ocular.

Este resultado pode também explicar os valores que dizem respeito à osmolaridade do grupo dos atópicos (valor de desvio padrão ser muito maior no grupo dos atópicos que no grupo controle), sendo que a nossa amostra não teve em conta o grau de CADESI-03 mas sim a presença ou ausência de DAc com sinais de CA.

#### **4.5 – Correlação entre a osmolaridade dos cães atópicos e o seu score de conjuntivite alérgica**

Ao obtermos esta relação da osmolaridade com a gravidade da DAc fomos então tentar perceber se o mesmo aconteceria no que diz respeito ao score de CA, ou seja, à gravidade da CA. No entanto não foram obtidos valores estatisticamente significativos entre a osmolaridade e o score de CA. Pensamos que o fato de ela estar presente influencia a osmolaridade lacrimal apesar de a sua gravidade já não estar relacionada. É também de salientar que esta alteração não se verificou com esta amostra (n=20) o que se poderia verificar se a aumentássemos. Como dissemos anteriormente a DAc é uma doença sistêmica, ou seja, vai afetar o corpo do animal como um todo podendo também esta causar estas alterações na lágrima do animal. No Homem sabemos que várias intervenções terapêuticas realizadas na DA melhoram paralelamente a CA, nomeadamente a administração de probióticos, corticoterapia oral e imunoterapia específica. Está a decorrer um estudo para sabermos se o mesmo acontece no cão e ao que parece também a imunoterapia específica melhora a CA nos cães.

Seria bastante interessante no futuro realizar-se um estudo em que fossem feitos dois grupos de animais com DAc, um com sinais de CA e outro sem sinais da doença para averiguar mais pormenorizadamente esta questão.

## 5 – Conclusão, Limitações do Estudo e Perspectivas Futuras

Há semelhança do que acontece no homem, também nos cães a osmolaridade do filme lacrimal encontra-se alterada em animais com DAC e sinais de CA.

Adicionalmente, foi possível verificar que a gravidade de apresentação da doença, ou seja, o seu grau de CADESI influencia a osmolaridade do filme lacrimal. Sendo que, quanto maior a escala CADESI a aumenta também a osmolaridade do filme lacrimal.

Neste estudo, infelizmente, foram encontradas limitações económicas, nomeadamente não se conseguiu fazer mais um grupo de animais, este com DAC mas sem sinais de CA para averiguarmos se o aumento da osmolaridade se mantinha, será algo a ponderar no futuro, na eventual realização de outro estudo.

Gostaríamos também de ter efectuado paralelamente, medições da IgE na lágrima e da ECP no entanto até à data de realização do estudo, não existiam kits disponíveis no mercado para nos fazerem tais medições e não tínhamos o tempo necessário para montarmos uma técnica de raíz.

Futuramente seria produtivo a realização de vários trabalhos nesta área. Um próximo estudo onde o grau de CADESI entre para os critérios de inclusão seria interessante para podermos comparar resultados, assim como agrupar os animais referentemente ao tempo de apresentação dos sinais clínicos ou diagnóstico da doença para podermos saber se tal como no Homem, o tempo de doença irá interferir marcadamente nos resultados da osmolaridade.

A avaliação da osmolaridade pode ser muito útil para monitorizar a resposta à terapêutica de animais com CA. No entanto, a utilização de cortisona tópica ocular tem os seus efeitos secundários, como o aumento da PIO ou o possível aparecimento de cataratas (Bonini *et al.*, 2009) assim como pode aumentar a osmolaridade do filme lacrimal no Homem (Lemp *et al.*, 2007). Por esta razão deveria ser investigado se estes animais beneficiariam do uso de anti-histamínicos tópicos para o tratamento de CA assim como a aplicação regular de uma lágrima artificial.

Fica também a questão de saber se o cão seria ou não um modelo de CA no Homem, pela semelhança da apresentação e sinais clínicos da doença que são observados. Citando Calonge, Siemasko & Stern (2003) é importante lembrar que a alergia é uma afeção típica do Homem e que nenhum animal, exceto o cão, desenvolve alergias oculares espontaneamente.

Tendo em conta a elevada prevalência da CA tanto nos cães como nos humanos, parece-nos pertinente que lhe seja dedicada um maior volume de investigação, principalmente em Medicina Veterinária onde ele é claramente escasso. O fato do cão poder vir a constituir um ótimo modelo de doença espontânea para o Homem, reveste o seu estudo de uma tônica que

atravessa as fronteiras entre a medicina dos animais e a do Homem, muito de acordo com o lema “uma só saúde”. Este trabalho abre então portas à possibilidade de realização de um grande número de estudos e a novas possibilidades de diagnóstico e monitorização de terapêuticas no caso de CA.

## 6 – Bibliografia

- Abelson, M. B., Chambers, W. A. & Smith, L. M. (1990). Conjunctival allergen challenge. A clinical approach to studying allergic conjunctivitis. *Arch Ophthalmol*, 108 (1), pp. 84-88.
- Aguilar, J. A. (2008). La hiperosmolaridad del film lagrimal en el ojo seco. *Arq Bras Oftalmol.*, 71 (6), pp. 69-71.
- Bielory, L. (2000). Allergic and immunologic disorders of the eye. Part II: Ocular allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 106 (6), pp. 1019-1032.
- Bielory, L. (2006). Allergic diseases of the eye. *Med Clin North Am*, 90 (1), pp. 129-148.
- Bielory, L. (2008). Ocular allergy overview. *Immunol Allergy Clin North Am*, 28 (1), pp. 1-23, v.
- Bielory, L. (2011). Ocular allergy. *Mount Saint Journal of Medicine*, 78, pp. 740-758.
- Bonini, S. (2006). Allergic conjunctivitis: the forgotten disease. *Chemical Immunology and Allergy*, 91, pp. 110-120.
- Bonini, S. (2010). *Allergic conjunctivitis*. 1st International Congresso of Southern European Allergy Societies, Florença.
- Bonini, S., Sgrullette, R., Coassin, M., Bonini, S. (2009). Allergic conjunctivitis: update on its pathophysiology and perspectives for future treatment. R. Pawankar et al. (Eds). *Allergy Frontiers: Clinical Manifestations*, pp. 25-48.
- Calonge, M., Siemasko, K. F. & Stern, M. E. (2003). Animal models of ocular allergy and their clinical correlations. *Current Allergy and Asthma Reports*, 3, pp. 345-351.
- Chigbu, G. I. (2009). The pathophysiology of ocular allergy: A review. *Contact Lens & Anterior Eye*, 32, pp. 3-15.
- Colitz, C. M. H. (2008). Doenças do sistema lacrimal. In: Birchard, S. J. & Sherding, R.G., *Manual Saunders: Clínica de Animais de Companhia (3ª edição)* (pp. 1416-1421) , São Paulo- Brasil: Roca.
- DeBoer, D. J. & Griffin, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81, pp. 271-276.
- Davis, K. & Townsend, W. (2011). Tear-film osmolarity in normal cats and cats with conjunctivitis. *Veterinary Ophthalmology*, 14 (1), pp. 54-59.
- Dethioux, F. (2006). A dermatite atópica canina, um desafio para o clínico. *Focus, edição especial*, pp. 5-53.
- Faure, J. P., Blch-Michel, E., Le Hoang, P. & Vadot, E. (1998). Immunopathologie de L'oeil. *Société Française d'Ophtalmologie*.



- Flament, F. & Storck, D. (1997). Oeil et pathologie générale. Société Française d'Ophthalmologie.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W. & Picco, F. (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology*, 21, pp. 23-31.
- Friedlaender, M. H. (2011). Ocular allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 11, pp. 477-482.
- Fujishima, H., Toda, I., Shimazaki, J. & Tsubota, K. (1996). Allergic conjunctivitis and dry eye. *British Journal of Ophthalmology*, 80, pp. 994-997.
- Gelatt, K. N. & MacKay, E. O. (1998). Distribution of intraocular pressure in dogs. *Vet Ophthalmol*, 1 (2-3), pp. 109-114.
- Giavina-Bianchi, P., Kalil, J. & Rizzo, L. V. (2008). Development of an animal model for allergic conjunctivitis: influence of genetic factors and allergen concentration on immune response. *Arch Ophthalmol*, 86, pp. 670-675.
- Griffin, C. E. & DeBoer, D.J. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81, pp. 255-269.
- Halliwell, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 114, pp. 207-208.
- Hill P. B. & Olivry, T. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (V): biology and role of inflammatory cells in cutaneous allergic reactions. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81, pp. 187-198.
- Hill, P. B. (2009). Pathogenesis of canine atopic dermatitis. In *Proceedings of the European Veterinary Conference Voorjaarsdagen: Amsterdam, the Netherlands, 23-25 April 2009*, pp. 1-4.
- Hillier, A. & Griffin, C. E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81, pp. 147-151.
- Hillier, A. & Olivry, T. (2004). Spontaneous canine model of atopic dermatitis. In L. S. Chan (Ed.), *Animal models of human inflammatory skin diseases* (pp. 353-369).
- Irkeç, M. T. & Bozkurt, B. (2012). Molecular immunology of allergic conjunctivitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 12, pp. 534-539.
- Korth, R. M. E., Romkes, G. & Eule, J.C. (2010). Tear film osmolarity as a diagnostic tool in small animal and equine medicine? [abstract]. *Abstracts: European Society of Veterinary Ophthalmologists, Dublin- Ireland, 13-16 May. Veterinary Ophthalmology* (2010), 13 (5), pp. 348-351.
- Kosina-Hagyó, K. (2011). Examination of tear film and its dynamics using ophthalmological

imaging methods. Ph.D. Thesis. Budapest. Department of Clinical Medicine. School of Ph.D. Studies, Semmelweis University.

- Lemp, M. A., Baudouin, C., Baum, J., Dogru, M., Foulks, G. N., Kinoshita, S., Laibson, P., McCulley, J., Murube, J., Pflugfelder, S. C., Rolando, M. & Toda, I. (2007). The definition and classification of Dry Eye Diseases: Report of the definition and classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop. *The Ocular Surface*, 5 (2), pp. 75-92.
- Lemp, M. A., Bron, A. J., Baudouin, C., Benítez Del Castillo, J. M., Geffen, D., Tauber, J., Foulks, G. N., Pepose, J. S. & Sullivan, B. D. (2011). Tear osmolarity in the diagnosis and management of Dry Eye Disease. *American Journal of Ophthalmology*, 151 (5), pp. 792-798.
- Leonardi, A., Dominicus, C. & Motterle, L. (2007). Immunopathogenesis of ocular allergy: a schematic approach to different clinical entities. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 7, pp. 429-435.
- Leonardi, A., Motterle, L. & Bortolotti, M. (2008). Allergy and the eye. *Clin Exp Immunol*, 153 Suppl 1, pp. 17-21.
- Lourenço-Martins, A. M. (2010). Contribuição para o estudo da dermatite atópica canina na área metropolitana de Lisboa. Tese de doutoramento em Ciências Veterinárias, Especificidade de clínica. Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Técnica de Lisboa.
- Lourenço-Martins, A. M., Peleteiro, M. C., Duarte-Correia, J. H. Morais-Almeida, M., (2010). Será o cão o melhor amigo de um atópico? *Ver Port Imunoalergologia*, 18 (5), pp. 405-418.
- Lourenço-Martins, A. M., Delgado, E., Neto, I., Peleteiro, M. C., Morais-Almeida, M., Duarte-Correia, J. H. (2011). Allergic conjunctivitis and conjunctival provocation tests in atopic dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 14 (4), pp. 248-256.
- Mantelli, F., Lambiase, A. & Bonini, S. (2009). A simple and rapid diagnostic algorithm for the detection of ocular allergic diseases. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 9 (5), pp. 471-476.
- Marback, P. M. F., Freitas, D., Junior, A. P., Junior, R.B. (2007). Aspectos clínicos e epidemiológicos da conjuntivite alérgica em serviço de referência. *Arq Bras Oftalmol*, 70, pp. 312-316.
- Marsella, R. (2006). Atopic dermatitis: a new paradigm. In *Symposium Proceedings: Hill's Symposium on Dermatology*, Palm Springs, CA, 2-4 April 2006, pp. 7-10.
- Marsella, R. & Olivry, T. (2003). Animal Models of Atopic Dermatitis. *Clinics in Dermatology*, 21, pp. 122-133.
- Marsella, R., Olivry, T., Nicklin, C. & Lopez, J. (2006). Pilot investigation of a model for canine atopic dermatitis: environmental house dust mite challenge of high-IgE-

- producing beagles, mite hypersensitive dogs with atopic dermatitis and normal dogs. *Vet Dermatol* (19), 19.
- Marsella, R. & Saridomichelakis, M. N. (2010). Environmental and oral challenge with storage mites in beagles experimentally sensitized to *Dermatophagoides farinae*. *Vet Dermatol*, 21 (1), pp. 105-111.
- Mauldin, E. A. (2006). Skin barrier function and canine atopic dermatitis. In Symposium Proceedings: Hill's Symposium on Dermatology, Palm Springs, CA, 2-4 April 2006, pp. 24-27.
- McMenamin, P. G. (2008). Ida Mann Lecture 2007: Planet eye. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 36 (7), pp. 592-599.
- Moore, C. P. (1999) Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. In Gelatt KN. (ed.) *Veterinary Ophthalmology*. (3rd ed) Lippincott Williams & Wilkins, pp. 583-607.
- Moscovici, B. K., Cesar, A. S., Nishiwaki-Dantas, M. C., Mayor, S. A. S., Marta, A. C. & Marques, J. C. (2009). Dermatoceraconjuntivite atópica em pacientes de Ambulatório de Dermatologia Infanto-Juvenil em centro de referência. *Arq Bras Oftalmol*, 72 (6), pp. 805-810.
- Nóbrega, D. R. (2010). Abordagem Proactiva à terapêutica da dermatite atópica canina. Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Técnica de Lisboa.
- Nuttall, T. (2008). Abordagem da dermatite atópica. *Veterinary focus: dermatologia canina e felina*, 18, pp. 32-39.
- Olivry, T., DeBoer, D. J., Favrot, C., Jackson, H. A., Mueller, R. S., Nuttall, T. & Prélaud, P. (2010). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology*, pp. 1-16.
- Olivry, T., Mueller, R., Nuttall, T., Favrot, C. & Prélaud, P. (2008). Determination of CADESI-03 threshold for increasing severity levels of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol*, 19 (3), pp. 115-119.
- Ono, S. J. & Abelson, M. B. (2005). Allergic conjunctivitis: Update on pathophysiology and prospects for future treatment. *J Allergy Clin Immunol*, 115 (1), pp. 118-122.
- Rigal, D. (1993). L'Épithélium cornéen. *Société Française d'Ophtalmologie*.
- Sanchez, M. C., Parra, B. F., Matheu, V., Navarro, A., Ibáñez, M. D., Dávila, I., Dordal, M. T., Bergal, M. L., Rondón, C., Montoro, J., Antón, E., Colás, C. & Valero, A. (2011). Allergic conjunctivitis. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 21 (2), pp. 1-19.
- Scott, D. W., Miller, W. H. & Griffin, C. E. (1997). Dermatoses Immunológicas. In Muller & Kirk's *Dermatologia en pequeños animales*, (5ª edición). (pp. 566-587). Buenos Aires-Argentina: Inter-médica.

- Takamura, E., Uchio, E., Ebihara, N., Ohno, S., Ohashi, Y., Okamoto, S., Kumagai, N., Satake, Y., Shoji, J., Nakagawa, Y., Namba, K., Fukagawa, K., Fukushima, A. & Fujishima, H. (2011). Japanese guideline for allergic conjunctival diseases. *Allergology International*, 60 (2), pp. 191-203.
- Toda, I., Shimazaki, J. & Tsubota, K. (1995). Dry eye with only decreased tear break-up time is sometimes associated with allergic conjunctivitis. *Ophthalmology*, 102, pp. 302-309.
- Todo-Bom, A. (1998). Imunopatogénese da alergia ocular. *Rev Port Imunoalergol*, 6 (2), pp. 136-139.
- Torkildsen, G., Workman, D. A. & Plumer, A. (2005). Dry eye or allergy: How to make the cal. *Review of Ophthalmology*, acedido em 20 de Dezembro de 2012, disponível em: [http://www.revophth.com/content/d/cover\\_focus/i/1310/c/25228/](http://www.revophth.com/content/d/cover_focus/i/1310/c/25228/).
- Uchio, E., Kimura, R., Migita, H., Kozawa, M. & Kadonosono, K. (2008). Demographic aspects of allergic ocular diseases and evaluation of new criteria for clinical assessment of ocular allergy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 246, pp. 291-296.

## **7 - Anexos**

Anexo I – Critérios de Diagnóstico de Dermatite Atópica Canina (Adaptado de Favrot's, 2010).

Início dos sinais antes dos 3 anos de idade;
Cão que vive maioritariamente dentro de casa;
Prurido responsivo a Glucocorticóides;
Presença de prurido;
Patas anteriores afetadas;
Pavilhões auriculares afetados;
Margens das orelhas não se encontram afetadas;
A área dorso-lombar não se encontra afetada.

Uma combinação de 5 critérios tem a sensibilidade de 85% e a especificidade de 79% para diferenciar cães com DAc de cães com prurido crónico e recorrente sem DAc. Adicionando um sexto parâmetro estes valores aumentam para 89% a especificidade mas diminuem para 58% a sensibilidade.

Anexo II – Autorização dos donos para o animal participar no estudo “Avaliação da osmolaridade lacrimal em cães atópicos com conjuntivite alérgica” (Original da autora).

### **Autorização para participação em estudo**

Eu, \_\_\_\_\_, autorizo o meu canídeo de nome \_\_\_\_\_ a participar no estudo “ Avaliação da osmolaridade da lágrima em cães atópicos com conjuntivite alérgica”.

Por ser verdade,

Lisboa, de \_\_\_\_\_ de 2013

\_\_\_\_\_

Anexo III – CADESI-03 (Adaptado de International Task Force on Atopic Dermatitis, 2004).

Zona do corpo		#	Eritema	Liquenificação	Escoriações	Alopécia auto-induzida	Total
Face	Periauricular	1					
	Periocular	2					
	Perilabial	3					
	Focinho	4					
	Mento	5					
Cabeça	Dorsal	6					
Pavilhão Auricular	Face convexa esquerda	7					
	Face convexa direita	8					
	Face côncava esquerda	9					
	Face côncava direita	10					
Pescoço	Dorsal	11					
	Ventral	12					
	Lateral esquerdo	13					
	Lateral direito	14					
Axila	Esquerda	15					
	Direita	16					
Esterno	Tórax ventral	17					
Tórax	Dorsal	18					
	Lateral esquerdo	19					
	Lateral direito	20					
Inguinal	Esquerdo	21					
	Direito	22					
Abdômen	n.a.	23					
Lombar	Dorsal	24					
Flanco	Esquedo	25					
	Direito	26					
Membro Anterior	Medial esquerdo	27					
	Medial direito	28					
	Lateral esquerdo	29					
	Lateral direito	30					
	Flexor ulnar esquerdo	31					
	Flexor ulnar direito	32					
	Flexor do carpo esquerdo	33					
	Flexor do carpo direito	34					
Extremidade Podal Anterior	Interdigital ventral esquerda	35					
	Interdigital ventral direita	36					
	Interdigital dorsal esquerda	37					
	Interdigital dorsal direita	38					
	Metacarpo palmar esquerdo	39					
	Metacarpo palmar direito	40					
	Metacarpo dorsal esquerdo	41					
	Metacarpo dorsal direito	42					
	Medial esquerdo	43					
	Medial direito	44					



Membro Posterior	Lateral esquerdo	45					
	Lateral direito	46					
	Flexor do joelho esquerdo	47					
	Flexor do joelho direito	48					
	Flexor do tarso esquerdo	49					
	Flexor do tarso direito	50					
Extremidade Podal Posterior	Interdigital ventral esquerda	51					
	Interdigital ventral direita	52					
	Interdigital dorsal esquerda	53					
	Interdigital dorsal direita	54					
	Metacarpo palmar esquerdo	55					
	Metacarpo palmar direito	56					
	Metacarpo dorsal esquerdo	57					
	Metacarpo dorsal direito	58					
Perianal	n.a.	59					
Perigenital	n.a.	60					
Cauda	Ventral	61					
	Dorsal	62					

Legenda:

- n.a. – não se aplica;
- 0 – Nada;
- 1 – Ligeiro;
- 2 e 3 – Moderado;
- 4 e 5 – Grave;

Anexo IV – Ficha oftálmica (original da autora).

## FICHA OFTÁLMICA PROJECTO GUADALUPE 2012

FICHA Nº \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_\_

PROPRIETÁRIO \_\_\_\_\_

TELEFONE \_\_\_\_\_

PACIENTE \_\_\_\_\_ ESPÉCIE \_\_\_\_\_ SEXO \_\_\_\_\_

RAÇA \_\_\_\_\_ IDADE \_\_\_\_\_

	OD	OE
R. PALPEBRAL		
R. AMEAÇA		
R. CORNEAL		
R. PUPILAR DIRECTO		
R. PUPILAR CONS.		
TESTE DE SCHIRMER		

OSMOLARIDADE DA LÁGRIMA OD \_\_\_\_\_ OE \_\_\_\_\_

TEAR BREAK UP TIME OD \_\_\_\_\_ OE \_\_\_\_\_

PIO OD \_\_\_\_\_ OE \_\_\_\_\_

### CARATERIZAÇÃO DA CONJUNTIVITE

	I LIGEIRA		II MODERADA		III GRAVE		AUSENTE	
	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE
PRURIDO	+	+	++	++	+++	+++	0	0
HIPERÉMIA	+	+	++	++	+++	+++	0	0
EPÍFORA	+	+	++	++	+++	+++	0	0
CORRIMENTO OCULAR	MUCOSO		MUCOPURULENTO		PURULENTO		0	0
	+	+	++	++	+++	+++		
QUEMOSE	+	+	++	++	+++	+++	0	0
C/ QUERATITE CONCOMITANTE	+	+	++	++	+++	+++	0	0

SCORE FINAL: OD \_\_\_\_\_ OE \_\_\_\_\_

VÍTREO E FUNDO OCULAR **OD** \_\_\_\_\_  
**OE** \_\_\_\_\_

HISTÓRIA CLÍNICA OCULAR:

MEDICAÇÕES PRÉVIAS OCULARES:

HISTÓRIA DERMATOLÓGICA E CLASSIFICAÇÃO CADESI-03:

MEDICAÇÕES PRÉVIAS DERMATOLÓGICAS:

EXPLORAÇÕES ADICIONAIS:

DIAGNÓSTICO:

## Anexo V – Dados dos animais do estudo realizado.

### Grupo controlo

Identificação do paciente	Grupo	Osmolaridade de		TBUT		PIO		Teste de Schirmer		Prurido		Hiperémia		Epífora		Corrimento ocular		Quemose		Queratite concomitante		Score Total		CADESI	
		OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	Total	Periocular
Benfica	controlo	317	306	40	42	15	17	21	22	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	2	2		
Cacau	controlo	329	328	50	49	19	20	20	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Baron	controlo	320	332	35	36	23	22	20	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Pirulito	controlo	334	339	40	40	19	18	18	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Charlie	controlo	332	331	33	33	21	22	21	21	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2		
Dick	controlo	330	315	36	35	22	22	19	25	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1		
Bernardo	controlo	335	321	40	38	23	22	23	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Diana	controlo	305	307	31	34	21	22	23	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Malhada	controlo	328	317	29	31	17	19	23	21	0	0	1	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1	3		
Nina	controlo	327	320	37	38	21	17	22	23	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	2	2		
Chico	controlo	315	333	47	45	14	17	24	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Puto	controlo	325	301	40	42	13	13	24	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Rafa	controlo	317	320	38	40	16	15	15	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Margarida	controlo	329	317	40	37	20	21	18	19	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
Fox	controlo	306	311	35	34	20	21	20	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Supre	controlo	321	318	45	38	18	19	20	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Fofinha	controlo	306	324	40	40	18	17	19	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Scooby	controlo	324	310	39	35	16	17	20	22	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
Biggie	controlo	329	314	38	42	15	17	24	23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Golias	controlo	316	332	34	37	19	22	23	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

### Grupo Atópico

Identificação do paciente	Grupo	Osmolaridade		TBUT		PIO		Teste de Schirmer		Prurido		Hiperémia		Epífora		Corrimento ocular		Quemose		Queratite concomitante		Score Total		CADESI	
		OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE	Total	Periocular
Laika	atópicos	368	375	12	10	21	23	21	21	2	2	3	3	0	0	2	2	1	2	0	1	6	7	55	2
Mila	atópicos	318	328	35	40	22	23	18	22	2	2	3	2	0	0	0	0	3	2	0	0	8	6	80	3
Cub	atópicos	310	331	38	40	22	19	18	16	2	2	2	3	2	2	1	1	2	3	0	0	9	11	99	4
Hushi	atópicos	348	335	22	28	22	27	21	17	1	1	3	3	1	1	1	1	0	1	0	0	6	7	108	2
Pipoca	atópicos	368	372	31	42	22	21	19	21	2	2	2	1	2	1	0	0	1	0	0	0	7	4	108	1
Kiko	atópicos	320	346	21	31	19	21	22	20	3	3	2	2	1	1	1	1	2	2	0	0	9	9	71	3
Lady	atópicos	341	327	40	19	20	21	18	17	3	3	2	3	3	3	1	2	1	2	0	0	10	13	79	4
Síria	atópicos	317	355	38	24	15	16	20	19	2	2	1	2	0	0	0	0	2	2	0	0	5	6	12	0
Óscar	atópicos	340	335	35	24	19	20	27	30	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	0	0	15	13	107	5
Wendy	atópicos	338	340	24	22	38	44	5	4	1	1	2	2	0	0	0	0	1	2	0	0	5	6	86	2
Puka	atópicos	323	333	26	24	18	15	24	23	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	0	0	8	8	69	2
Ginja	atópicos	342	319	41	39	20	19	24	25	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	0	0	8	8	74	3
Tomás	atópicos	330	327	38	27	20	18	18	19	3	3	2	2	1	1	1	1	3	2	0	0	10	9	341	4
Zeus	atópicos	374	401	29	40	25	23	29	28	3	3	3	3	2	2	1	1	2	2	0	0	11	11	128	4
Luna	atópicos	373	331	29	32	21	20	19	20	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	0	0	9	9	208	4
Isolda	atópicos	316	323	40	38	15	15	16	15	1	1	3	2	1	1	2	2	2	2	0	0	9	8	85	3
Roxie	atópicos	329	363	39	29	21	21	20	22	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	0	0	6	5	83	3
Ofélia	atópicos	318	330	40	39	20	18	15	21	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	0	0	9	9	106	4
Snow	atópicos	320	370	29	43	15	19	17	15	2	2	2	2	1	1	1	2	2	3	0	0	8	10	154	4
Scott	atópicos	320	361	34	35	11	11	22	25	1	1	2	1	2	2	1	1	2	1	0	0	8	6	109	3